Untersuchung zur Genese von Huminsäuren und deren Struktur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Kuno Jahns
aus
Thomasdorf

1980

Untersuchung zur Genese von Huminsäuren und deren Struktur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Kuno Jahns
aus
Thomasdorf

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung : 26. September 1980

Dekan	:	Prof. Dr. M. Hanack
1. Berichterstatter	:	Prof. Dr. E. Bayer
2. Berichterstatter	:	Prof. Dr. W. Voelter

A B S T R A C T

JAHNS, Kuno

Untersuchung zur Genese von Huminsäuren und deren Struktur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm

In einer Versuchsanlage wurde Klärschlamm einer aerob-thermophilen Behandlung unterzogen, wobei die Sauerstoffzufuhr und die Reaktionstemperatur variiert wurden. Eindeutig ist der Zusammenhang zwischen der Abnahme an Bakterienmasse und der Huminsäurebildung. Die gebildete Menge Huminsäuren pro Gramm abgebaute Bakterientrockensubstanz nimmt mit steigender Temperatur im Reaktor zu. Huminsäuren liegen in den Bakterienzellen vor, wie auch durch Ultraschallaufschluß von mesophilen Bakterien gezeigt werden konnte.

Die gebildeten Huminsäuren zeigen analoge Komplexierungseigenschaften gegenüber Schwermetallen wie die Bodenhuminsäuren, wobei Cd bevorzugt komplexiert wird.

Aus den ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren der nativen Huminsäuren ergeben sich eindeutig Etherfunktionen (ca. 30%). Die photochemische Spaltung von Huminsäuren ergibt einen sehr hohen Anteil mit Molekulargewicht <1000. Die erhaltenen Massenspektren der Spaltstücke sind identisch, ebenso die ^{13}C-NMR-Spektren.

Die PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektren der nativen Huminsäure sowie der genetisch verwandten Torf- und Braunkohle-Hu minsäure zeigen qualitativ, daß der Anteil der Polyether mit zunehmendem Alter abnimmt, während gleichzeitig aromatische Anteile verstärkt auftreten.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549627_0023

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1978 bis März 1980 unter der Leitung von
Herrn Prof. Dr. E. Bayer
im Chemischen Institut der Universität Tübingen durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. E. Bayer, meinem verehrten Lehrer, danke ich für die großzügige Unterstützung der Arbeit und sein Interesse, das er ihr stets entgegengebracht hat.

Herrn Dr. K. Albert danke ich für viele wertvolle Anregungen.

Für M.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	
1.	Überblick	1
2.	Problemstellung	11
3.	Versuchsstrategie	13
II.	Allgemeiner Teil	
1.	Bildung von Huminsäuren	15
1.1.	Huminsäuren aus Mikroorganismen durch Ultraschallaufschluß	16
2.	Getrennte aerobe Schlammstabilisierung	18
2.1.	Aerob-thermophile Schlammstabilisierung	19
2.1.1.	Stoffwechselprozeß und Wärmebildung	21
2.1.2.	Aerob-thermophile Mikroorganismen	22
2.2.	Auswahl der Kläranlage	32
3.	Aufbau der Versuchsanlage zur aerob-thermophilen Behandlung von Klärschlamm	33
3.1.	Funktionsweise der aerob-thermophilen Versuchsanlage	34
3.1.1.	Sauerstoffzufuhr bei der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung	36
4.	Versuchsdurchführung	40
4.1.	Standversuch mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h (Sauerstoffdefizit)	41
4.2.	Standversuch mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h (Sauerstoffüberschuß)	47
4.3.	Standversuch zur Optimierung der Reaktionstemperatur im aerob-thermophilen System	52
4.4.	Standversuch zur weiteren Steigerung der Reaktionstemperatur im aerob-thermophilen System	57
4.5	Standversuch zur Bildung von HS beim	

	aerob-thermophilen Abbau bei weiterer Steigerung der Reaktionstemperatur	61
4.6.	Durchlaufversuch zur Bildung von HS beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm	66
5.	Isolierung von Huminsäuren	72
5.1.	Isolierung mit Lauge	72
5.2.	Isolierung mit Säure	73
5.3.	Andere Isolierungsmethoden	74
5.4.	Schonende Isolierungsmethode	75
6.	Charakterisierung der isolierten HS	81
6.1.	Infrarotspektroskopie	82
6.2.	NMR-spektroskopische Untersuchung	84
6.2.1.	^{1}H-NMR-Spektroskopie	84
6.2.2.	^{13}C-NMR-Spektroskopie	87
6.3.	Elementaranalysen der isolierten HS	89
6.4.	Optische Aktivität	90
7.	Untersuchungen zur Strukturaufklärung	97
7.1.	Molekulargewichte	97
7.2.	Versuche zur Hydrierung von HS	98
7.2.1.	Hydrierung von HS mit Palladium/Aktivkohle bei 100 °C	99
7.2.3.	Hydrierung von HS mit Raney-Nickel	99
7.3.	Reinigung von HS durch HCl in Tetrahydrofuran	100
7.4.	Reinigung von HS durch Soxhlet-Extraktion	101
7.5.	Diskussion der ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren der gereinigten HS	103
7.6.	Diskussion der ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektren der gereinigten HS	110
7.7.	Huminsäuren aus Torf	114
7.8.	^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum von Torf	117
7.9.	^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum von HS aus Braunkohle	120
7.10.	Oxidation von HS mit H_2O_2 in gepufferter Lösung	123
7.11.	Oxidation von HS mit H_2O_2 bei gleichzeitiger Extraktion	125
7.12.	Photochemische Spaltung von Huminsäuren	129
7.13	Versuch zur weitergehenden photochemischen Spaltung von HS durch Verlängerung der Bestrahlung	139

8.	Darstellung von Melaninen	143
8.1.	Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Luftsauerstoff	144
8.2.	Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit K_3 Fe $(CN)_6$	144
8.3.	Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Singulett-Sauerstoff	145
9.	Zusammenfassung	148
III.	Experimenteller Teil	
1.	Geräte	154
2.	Isolierugn von HS durch Ultraschallaufschluß von Bakterienmasse	155
3.	Quantitative Bestimmung und Isolierung von HS	156
4.	Herstellung von Polysulfonmembranen	158
5.	Messung der Dehydrogenasenaktivität	159
6.	Bestimmung des Wassergehaltes und des Trockenrückstandes	161
7.	Bestimmung des Glühverlustes	163
8.	Bestimmung des Ammoniumstickstoffs	164
9.	Bestimmung des Nitrit-Ions	166
10.	Bestimmung des Nitrat-Ions	168
11.	Schwermetallremobilisierung von HS	171
12.	Darstellung von 5,6-Dihydroxyindol	173
12.1.	Darstellung von 2-Nitro-4,5-methylendioxy-benzaldehyd (74)	173
12.2.	Darstellung von 2-Nitro-4,5-methylendioxy- -nitrostyrol (74)	174
12.3.	Darstellung von 5,6-Methylendioxyindol (74)	174

12.4.	Darstellung von, 5,6-Dihydroxy-indol	175
13.	Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Luft-sauerstoff	177
14.	Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Kalium-hexacyanoferrat III	178
15.	Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Singulett-Sauerstoff	178
16.	CD-Kurven	179
16.1.	CD-Kurve von der gereinigten HS	179
16.2.	CD-Kurve des Spaltstücks 1000	179
16.3.	CD-Kurve des Spaltstücks 1000	179
17.	NMR-spektroskopische Unter-suchungen	180
17.1.	^{1}H-NMR-Spektren	180
17.2.	^{13}C-NMR-Spektren	180
17.3.	PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektren	180
IV	Literaturverzeichnis	182

Abkürzungen:

A_B	Spezifische Dehydrogenasenaktivität
BSB_5	Biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
DEV	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamm-Untersuchung
E_{480}	Extinktion bei 480 nm
GR	Glührückstand
GV	Glühverlust
HS	Huminsäuren
TS	Trockensubstanz
org. TS	Organische Trockensubstanz
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid
T_1	Reaktortemperatur in Stufe I
T_2	Reaktortemperatur in Stufe II
T_A	Außentemperatur
T_V	Zulauftemperatur vor dem Wärmeaustauscher
T_R	Außentemperatur
T_Z	Zulauftemperatur nach dem Wärmeaustauscher

I. Einleitung

1. Überblick

Der kollektive Begriff "Huminstoffe" (1,2) wird verwendet um eine komplexe Mischung von amorphen (3), gelbbraunen, höhermolekularen organischen Naturstoffen zu beschreiben, die weitverbreitet und in großer Menge in der Biosphäre (4) vorkommen. Sie stellen ein verhältnismäßig stabiles Produkt biologischer und chemischer Umsetzungen der organischen Substanz im Boden dar, wobei vor allem an abgestorbenes pflanzliches Ausgangsmaterial gedacht wird. Somani (5) hat die Humusfraktionen eingeteilt in Huminsäuren als größte Fraktion, gefolgt von Fulvosäuren, Humine, ß-Humus und schließlich Hymatomelaninsäuren. Die Huminsäuren werden aber auch, wie Martin, Richards und Haider (6) zeigen konnten als Zellbestandteile aus metabolischen Produkten während des aktiven Wachstums einerseits und bei der Autolyse gealteter Kulturen von Epicoccum nigrum andererseits gebildet.

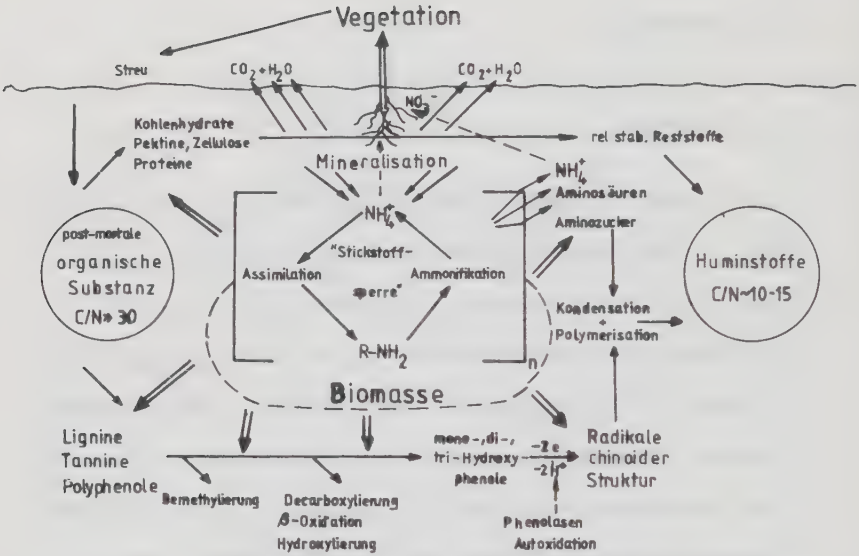


Abb. 1: Schematische Darstellung der Mineralisierungs-und Humifizierungsprozesse frischer, postmortaler organischer Substanz.

Obgleich eine riesige Zahl gefärbter Naturstoffe isoliert wurden und die Struktur von vielen aufgeklärt werden konnten, blieb die Chemie der "schwarzen Pigmente", lange ohne Erfolg und zwar deshalb, weil die Mehrzahl dieser Stoffe Polymere, wahrscheinlich unregelmäßiger Struktur und Herkunft sind und selten rein in ausreichender Menge isoliert werden konnten (7, 8). Dies trifft auch

für die Strukturaufklärung von Huminsäuren zu, die insbesondere durch die Komplexizität dieser Substanzklasse erschwert wird. Zum einen sind die Huminsäuren standortspezifische Syntheseprodukte und somit untereinander schlecht vergleichbar, wie am N/C-Verhältnis, das sich nachträglich von den niedermolekularen Fulvinsäuren zur höhermolekularen Huminsäure (9) verändert, zum anderen besteht jedes "Huminsäure-Molekül" aus einer Vielzahl verschiedener Komponenten, die je nach Isolierungsmethode sowie Aufarbeitungs- und Analysenverfahren vollständig oder auch nicht erhalten bleiben.

Auch Versuche, Kenntnisse von bislang unbekannten Substanzen in übersichtliche Strukturbilder zu übertragen, führten bei Huminsäure zu keinem befriedigenden Ergebnis. Zwar hat man gelegentlich Strukturformeln mehr oder weniger deduktiv hergeleitet und diese mit ausgewählten experimentellen Erfahrungen in Einklang gebracht, aber weiterführende Informationen vermochte man in der Regel aus ihnen nicht herzuleiten. Die Befunde erwiesen sich oft als mehrdeutig und durchaus nicht immer widerspruchsfrei (10).

Prinzipiell gibt es zwei Wege, die Struktur dieser komplexen Substanzen zu klären. Entweder gelingt es, sie in ihre Bestandteile aufzutrennen und diese eindeutig zu

charakterisieren oder man versucht durch einen schonenden chemischen Abbau leichter zu identifizierende Bruchstücke zu erhalten (11). Biopolymere werden auch häufig durch Pyrolyse in Kombination mit GC, MS und GC-MS charakterisiert, jedoch ist bei diesen Temperaturen von 400-700°C eine Artefaktbildung nicht auszuschließen.
Zur Charakterisierung der Huminsäuren wird auch die Elementarzusammensetzung herangezogen. Die Angaben in der Literatur schwanken jedoch erheblich; so gibt Steelink (12) und Bozzay (13) folgende Bereiche an:

C : 43,00 - 61,99 %

H : 1,99 - 7,34 %

O : 29,80 - 47,80 %

N : 3,11 - 8,50 %

S : 0,10 - 1,70 %

Ein ähnliches Bild erhält man aus den Daten über die Molekulargewichte. Während Steelink (12) für Huminsäuren ein Molekulargewicht von 1000 - 10000 postuliert, gibt Orlov (14) mehrere verknüpfte Untereinheiten mit je einem Molekulargewicht von 1500 an.
In zahllosen Veröffentlichungen (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27) werden hauptsächlich die Eigenschaften dieses hochmolekularen Stoffes wie Ionenaustauscherfähigkeiten, Adsorptions- und Komplexbildungsei-

genschaften mit organischen und anorganischen Komponenten beschrieben. So enthalten Huminstoffe z.B. Metalle und Pestizide (16, 21, 13). Diese Eigenschaften sind auf bestimmte funktionelle Gruppen im Molekül zurückzuführen, wobei aber über die strukturelle Konfiguration dieser Gruppen wenig bekannt ist. Modellartig gesehen, sollen die Huminsäuren aus einem Kern von Polycyclischen Aromaten bestehen, welcher durch kovalente Bindung, H-Brücken sowie van der Waalsche Kräfte mit Proteinfragmenten, einfachen Phenolen, aliphatischen Kohlenwasserstoffen, Polysacchariden und eingebauten Metallen eine relativ stabile dreidimensionale Anordnung eingegangen ist (28).
Nach (14) sind Huminsäuren zusammengesetzt aus 3 - 4fach substituierten Benzolen, die über Doppelbindung mit phenoxazinartigen Strukturen verbunden sind, was eine genügend ausgedehnte und ununterbrochene Mesomerie ergibt, die auch die intensive Färbung der Huminsäuren erklärt.

Die Notwendigkeit zur Erforschung der Pedosphäre steht heute mehr denn je außer Zweifel. Stand noch vor 30 - 40 Jahren die Erhaltung und Mehrung der Bodenfruchtbarkeit einzelner Standorte im Zentrum der Aufgaben,

so sind der Boden- und Landschaftsforschung heute insofern neue, zusätzliche Aufgaben gestellt, als die Ansprüche der Industrie- und Konsumgesellschaft an Böden und Landschaften stark gestiegen sind. Man denke allein an die Aufgaben von Böden als Filterkörper und Puffer gegenüber "Belastungen" mit mineralischem Dünger, Pestiziden, Schwermetallen, Klärschlamm und Müllkomposten. Eigenschaften, welche den Böden bereits mit Selbstverständlichkeit abverlangt wurden, lange bevor ausreichende Kenntnisse über Möglichkeiten, Schwellenwerte und Folgen solcher Eingriffe vorlagen.
Bisherige Ergebnisse zeigen deutlich, daß es vor allem die organische Substanz, die Zersetzungsprodukte biologischen Ursprungs ebenso wie die Mikroorganismen selbst sind, welche im Oberboden jene unentbehrlichen Aufgaben der Pufferung, Filterung und Selbstregulierung übernehmen. Die zentrale Rolle der organischen Substanz hinsichtlich Pufferung, Sorption, Immobilisierung und Metabolik von Pestiziden und Schwermetallen steht heute außer Zweifel. Je höher der Anteil an organischen Bodenkomponenten ist, desto stärker ist die Sorption und umso geringer die Bioaktivität von Pestiziden (besonders wichtig für systemische Herbizide und Fungizide). Wenn wir nun die große Verschiedenheit der Huminsäure

-Komponenten und ihre Eigenschaften, wie relativ große Oberfläche, Vielzahl an funktionellen Gruppen (Carboxyl, Phenol, Hydroxyl, Amino), dreidimensional vernetzte Kerne mit hydrophilen und hydrophoben Seitenketten zusammen betrachten, so wird die starke und vielseitige Filter- und Pufferwirkung der organischen Bodensubstanz leicht verständlich. Die Kräfte, welche als Sorptionsmechanismen in Frage kommen, sind infolge dessen sowohl physikalischen als auch chemischen Ursprungs (H-Brücken, Ionenaustausch und Chelatisierung).

Die Rolle der organischen Substanz, speziell der besonders aktiven Komponente, den Huminsäuren, ist somit vielseitig und es erscheint in diesem Zusammenhang wichtig, ihre Struktur verbunden mit den vielseitigen Funktionen sowie ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften genauer zu betrachten, auch um damit einige praktische Probleme der modernen Landwirtschaft lösen zu können (28).

Eine weitere wichtige Bedeutung wird den Huminsäuren im Trinkwasser zugeschrieben. Seit mehr als 50 Jahren ist bekannt, daß bei der Chlorung von Trinkwasser durch die Reaktion des Chlors mit organischen Wasserinhaltsstoffen Chlorverbindungen entstehen können. Standen damals geschmacksintensive (29) Chlorphenole im Vorder-

grund des Interesses, so hat sich die Situation in den letzten Jahren durch die Arbeiten von Rook (30,31), Symons (32), Stevens(33) über die Bildung von Haloform bei der Umsetzung von Chlor mit natürlich organischen Wasserinhaltsstoffen schlagartig verändert. Epidemiologische Studien in Amerika zeigten nämlich, daß steigendes Vorkommen von verschiedenen Arten von Krebs verursacht werden könnten durch den Verbrauch chlorierten Trinkwassers (34). Wie analytische Untersuchungen zeigten, erreichte im chlorierten Trinkwasser Chloroform, ein erwiesen carcinogener Stoff, die höchste Konzentration. Die Autoren nehmen übereinstimmend an, daß dabei hauptsächlich die Huminstoffe die Vorläufer dieses Trihalomethans sind, gebildet nach dem Mechanismus der bekannten Haloformreaktion.

Kommunale Abwässer enthalten in beträchtlichen Mengen Krankheitserreger, die von akut Kranken, Dauerausscheidern, Krankenhäusern, aber auch von Schlacht- und Viehhöfen und anderen Quellen aus Gewerbe und Industrie eingeleitet werden. Die lange Zeit bestehende Meinung, daß die bis zu drei Stufen umfassende Reinigung der Abwässer in den Kläranlagen auch die Krankheitserreger unschädlich macht, ist durch entsprechende Untersuchungen als unrichtig erkannt worden (35, 36, 37).

Die in den Kläranlagen zurückbleibenden Schlämme (Vorklär-, Überschuß-, chemischer Schlamm) sind stark mit Krankheitserregern wie Salmonellen (Typhus-Paratyphus; Lebensmittelvergiftungen) angereichert. So sind z.B. Schlämme in der Schweiz wie folgt mit Salmonellen infiziert: Rohschlamm zu 93 %, Belebtschlamm zu 85% und Faulschlamm zu 89 %. Das bedeutet, daß auch nach dem Ausfaulungsprozeß die Krankheitserreger in dem Schlamm nicht zerstört waren. Dieser ausgefaulte Schlamm wird z.Zt. der Land- und Forstwirtschaft sowie dem Gartenbau als Dünger oder Bodenverbesserungsmittel angeboten. Da man in den nächsten Jahren mit einem starken Anstieg der anfallenden Klärschlammengen rechnen muß - 1985 mit ca. 50 Millionen m^3 Kommunalschlamm und 35 Millionen m^3 Industrieschlamm - wird die sinnvolle Nutzung dieser gewaltigen Menge an Klärschlamm zum Problem: falls diese Schlämme vor der Nutzung nicht desinfiziert werden, kann daraus eine Infektionsgefährdung der Nahrungskette - Pflanze - Tier - Mensch entstehen, da zahlreiche Krankheitserreger sich auf Pflanzen, auf und in dem Boden und in Oberflächenwasser über Wochen und Monate am Leben halten (38).
Der Klärschlammdesinfektion kommt somit immer größere Bedeutung zu.

Als Methoden für eine Entseuchung - Desinfektion von Klärschlämmen - kommen in Frage:

- aerob-thermophile Stabilisierung (Flüssigkompostierung)
- Verfestigung mit Branntkalk
- Bestrahlung aus Co-Quellen oder Elektronenbeschleunigern
- Kompostierung von entwässertem Schlamm in stationären oder beweglichen Rottezellen.

2. Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Genese von Huminsäuren beim biologischen Abbau von Klärschlamm durch eine aerob-thermophile Behandlung untersucht. Eine Aufgabe bestand darin, zu klären, ob durch den biologischen Abbau in Kläranlagen eine Verbindungsklasse gebildet wird, die ähnliche Strukturmerkmale aufweist wie die Bodenhuminsäuren.

Da Huminsäuren im Ablauf von Kläranlagen unerwünscht sind, da dadurch der CSB des Ablaufs erhöht wird und durch die Metallkomplexierungseigenschaften der Huminsäuren eine Metallhydroxidremobilisierung aus dem Vorflutsediment ermöglicht wird, bekommt die Huminsäuregenese immer größere Bedeutung. Weiterhin sollte ermittelt werden, ob die Bildung von Huminsäuren auf enzymatischem Wege verläuft oder ob sie außerhalb der Zelle beim biologischen Abbau auf eine Oxidation mit Luftsauerstoff zurückzuführen ist, wie bisher immer angenommen wurde. Da bei der Analyse von Naturstoffen die angewandte Isolierungs- und Reinigungsmethode eine entscheidende Rolle spielt - einerseits muß eine möglichst effektive Anreicherungsmethode benützt werden, andererseits sollen dabei Kontaminationen sowie

Veränderungen im Naturstoffmolekül ausgeschlossen sein - wurde die Ultra- und Diafiltration zur Isolierung der gebildeten Huminsäuren benützt. Dabei ergaben sich jedoch unerwartete Probleme, da die kommerziellen Membranen alle ähnlich konditioniert werden und sie während des Filtrationsbetriebes höhermolekulare Stoffe abgeben, die dann das isolierte Produkt verunreinigen. Hinweise auf die Struktur von Huminsäuren wurden bisher nur durch drastische chemische und physikalische Methoden erhalten, da es sich bei Huminsäuren um relativ stabile Endprodukte handelt. Spektroskopische Methoden wie UV-, IR- und NMR-Spektroskopie lieferten bisher wenig aussagekräftige Angaben. Huminsäuren ergeben auch keine Massenspektren, da sie keinen Schmelzpunkt und auch keinen meßbaren Dampfdruck besitzen.

In neuerer Zeit werden Pyrolyse-GC-MS-Untersuchungen von Huminsäuren durchgeführt; die Nachteile sind aber die notwendigen hohen Temperaturen (400-700°C), die zur Spaltung aber auch zu Umlagerungsreaktionen führen kann.

3. Versuchsstrategie

1. Genese von Huminsäuren

1.1. Bau einer Versuchskläranlage für eine aerob-thermophile Schlammbehandlung. Als Substrat soll nur eingedickter Klärschlamm verwendet werden. Es wird die Huminsäurebildung bei verschiedenen Versuchsparametern - wie Sauerstoffdefizit bzw. Sauerstoffüberschuß, verschiedenen Aufenthaltszeiten des Klärschlamms im System, unterschiedlichen Bakterientrockensubstanzen und daraus resultierenden anderen Temperaturen - untersucht.

1.2. Isolierung möglichst großer Huminsäure-Mengen zur Strukturaufklärung, vor allem Charakterisierung mittels UV-, IR-,NMR-Spektroskopie und Elementaranalyse.

1.3. Remobilisierungsversuche von verschiedenen Metallhydroxiden durch Huminsäuren.

2. Für die Strukturaufklärung wurden folgende Untersuchungen geplant:

2.1. Schonende H_2O_2-Oxidation in gepufferter Lösung

2.2. H_2O_2-Oxidation mit gleichzeitiger Extraktion

2.3. Photochemische Spaltung

2.4. Darstellung von verschiedenen Melaninen und Unter-

suchung eventueller Verwandtschaft zwischen Melaninen und Huminsäuren.

II. Allgemeiner Teil

1. Bildung von Huminsäuren

Wie der Autor schon früher berichtete (2), werden Huminsäuren beim biologischen Abbau von Abwasser gebildet. Es hatte sich gezeigt, daß bei gleichen Belastungsverhältnissen und gleichen Aufenthaltszeiten keine Substratabhängigkeit bei der Bildung von Huminsäuren besteht. Dagegen läßt sich eine eindeutige Abhängigkeit zwischen der Huminsäure-Konzentration im Auslauf und der Aufenthaltszeit im biologischen System feststellen. Weiterhin hängt die gebildete Huminsäure-Menge sehr stark von der Trockensubstanz der Bakterienmasse ab. Da mit steigendem Anteil autolysierter Mikroorganismen die HS-Konzentration ansteigt, müssen die Huminsäuren in den Zellen der Mikroorganismen bereits vorliegen und werden beim Aufbrechen der Zellmembran ins Wasser abgegeben. Analoges wird von Martin, Haider und Wolf (39) bei dem Pilz Hendersonula toruloidea berichtet.

1.1. Huminsäuren aus Mikroorganismen durch Ultraschallaufschluß

Nach (2) steigt die Huminsäure-Menge mit dem Anteil aufgebrochener Bakterienzellen an. Bisher war jedoch unklar, ob die Huminsäuren bereits in den Mikroorganismenzellen vorliegen oder ob sie erst aus kleineren Bausteinen bei Zutritt von Luftsauerstoff gebildet werden.

Um Aufschluß darüber zu erhalten, ob Huminsäuren mikrobiologische Produkte darstellen oder ob sie durch chemische Oxidation mit Luftsauerstoff von Zellbestandteilen entstehen, wurden 4 l Belebtschlamm mit 2,88 g/l TS und einem Glühverlust von 79,5 % filtriert, mit Wasser gewaschen, in 800 ml bidestilliertem Wasser aufgeschlämmt und unter Kühlung mit einer Schallenergie von 60 Watt 1 Stunde beschallt. Aus dem Filtrat wurden 293,9 mg HS isoliert. Die Isolierung wird in III.3. näher beschrieben. Der Filterrückstand wurde in 1 molarer NaCl-Lösung aufgenommen und nochmals mit Ultraschall (60 W) 1 Stunde beschallt. Die Isolierung aus dem Filtrat erbrachte nochmals 235,5 mg HS. Eine weitere Behandlung mit Ultraschall in 2 m NaCl-Lösung erbrachte keine nennenswerten HS-Mengen mehr. Es konnte also durch Ultraschallbehandlung von Mikroorganismen

in Wasser 3,2 % Huminsäuren bezogen auf die organische Trockensubstanz isoliert werden. Folgt eine nochmalige Beschallung in 1 m NaCl-Lösung so wurden weitere 2,6 % Huminsäuren (bezogen auf die Trockensubstanz) gefunden. Das bedeutet, daß aus Mikroorganismen 5,8% HS (bezogen auf TS) isoliert werden können, ohne daß durch Luftsauerstoff eine chemische Oxidation erfolgen konnte. Somit liegen die Huminsäuren in den Bakterienzellen bereits vor.

Die Elementaranalyse[1)] der beiden Huminsäuren ergab folgende Werte (Tab. 1):

Element	C %	H %	N %	S %	O %	Aschegehalt %
HS in H_2O	35,91	5,46	6,17	1,48	47,39	3,59
HS in 1 m NaCl-Lsg.	34,93	4,96	4,96	2,36	38,42	14,37

Tabelle 1: Elementarzusammensetzung von HS aus Bakterienmasse durch Ultraschallbehandlung.

1) Für die Durchführung der Elementaranalyse danke ich Herrn H.J. Wurmstich.

2. Getrennte aerobe Schlammstabilisierung

Alle Überlegungen zur Beseitigung von Klärschlamm gingen von den Tatsachen aus, daß frischer abgesetzter Klärschlamm in der Regel nicht direkt abgelagert werden kann, weil er schlecht entwässert vorliegt und zu unerträglichen Geruchsbelästigungen führt.
Durch die anaerobe Faulung gewinnt man einen Schlamm, der sich entwässern läßt und bei der Ablagerung zu keinen Geruchsbelästigungen mehr Anlaß gibt.
Will man für aerob behandelten also stabilisierten Schlamm ähnlich charakteristische Daten festsetzen, so ist auch hier - ähnlich wie bei der anaeroben Stabilisierung - von den gleichen Zielvorstellungen auszugehen, daß sich der stabilisierte Schlamm

a) besser entwässern läßt als der frische Schlamm und
b) ohne Geruchsbelästigungen entwässern und ablagern läßt bzw.
c) direkt landwirtschaftlich nutzbar zu machen ist.

Diese vom Belebungsbecken getrennte aerobe Schlammstabilisierung stieß in den letzten Jahren zunehmend wegen ihrer unsicheren Betriebsverhältnisse in den Wintermonaten auf ablehnende Kritik. Grund war dafür vor allem, daß die notwendigen Stabilisierungszeiten bei

niedrigen Temperaturen (5 - 15°C) erheblich verlängert werden müssen, um einen ausreichenden Stabilisierungsgrad zu erreichen (40).

2.1. Aerob-thermophile Schlammstabilisierung

Als aerob-thermophile Schlammstabilisation soll eine biologische aerobe Schlammbehandlung verstanden werden, die bei Prozeßtemperaturen über 45°C stattfindet und deren Erwärmungsenergie aus der Stoffwechseltätigkeit der vorhandenen Mikroorganismen gewonnen wird. Es wird also zur Erreichung der erhöhten Reaktionstemperatur keine Energie (Heizung) von außen zugeführt, sondern der Prozeß hält sich selbstgängig im thermophilen Temperaturbereich (41).

Dieses Verfahren bringt neue und entscheidende Aspekte in die Diskussion über eine günstige Art der biologischen Schlammstabilisation. Durch exotherme aerob-thermophile Abbauprozesse sind Stabilisierungstemperaturen über 45°C und somit kurze Stabilisierungszeiten für alle Jahreszeiten gesichert (42).

Wenn davon ausgegangen wird, daß Abwässer mit BSB_5-Werten über 8000 mg/l die Leistungsgrenzen der bisher eingesetzten aeroben biologischen Reinigungsverfahren überschreiten und in diesem Zusammenhang als organisch

hochkonzentriert definiert werden, so sind die in Tabelle 2 aufgeführten Abwasserarten für die Anwendung aerob-thermophiler Abbauprozesse von Interesse:

Abwassererzeuger/Abwasserart	BSB [mg/l]
Brennereien	bis 20000
Hefefabrikation	10000 - 20000
Gemüse-, Obst-, Sauerkrautfabrikation	10000
Molkereien, Käsereien	bis 110000
Zuckerfabriken (Melasseendablauf)	10000
Silage-Abwässer	bis 100000
Abwässer aus Massentierhaltungen (Gülle)	bis 40000
Klärschlamm aus kommunalen bzw. vergleichbaren Kläranlagen (als Sonderform eines organisch hochkonzentrierten "Abwassers")	über 20000

Tabelle 2: Arten organisch hochkonzentrierter Abwässer.

Wie unter 1.1. gezeigt werden konnte, lassen sich Huminsäuren direkt aus Bakterienmasse durch Ultraschallaufschluß isolieren, ohne daß durch Luftsauerstoff eine chemische Oxidation erfolgen konnte. Um zu untersuchen, ob durch eine Oxidation von Luftsauerstoff Zellbestandteile zu Huminsäuren aufgebaut werden können, wurde die Bildung von Huminsäuren beim aerob-thermophilen

Abbau von Klärschlamm untersucht. Dabei mußte darauf geachtet werden, daß ausschließlich Überschußschlamm zum Abbau eingesetzt wird, damit sich ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Bakterienmasse und HS-Bildung ergibt. Bei zusätzlicher Verwendung von Vorklärschlamm würde eine erhebliche Verfälschung der Ergebnisse die Folge sein.
Als Substrat für die Mikroorganismen diente dabei die Bakterienmasse selbst, d.h. ein Teil der Mikroorganismen wird autolysiert und steht den restlichen als Substrat zur Verfügung.

2.1.1. Stoffwechselprozeß und Wärmebildung

Daß beim Stoffwechselprozeß aerober Mikroorganismen in erheblichem Maße Wärme entstehen kann, die vom System abgegeben wird, ist seit langem bekannt (40, 43, 44). Diese frei werdende Energie wurde jedoch bisher nicht bewußt zur Erhöhung der Leistung von Belebungsanlagen eingesetzt, weil man die verfahrenstechnischen Bedingungen, die zur Nutzbarmachung in der technischen Anwendung führen, nicht kannte, die frei werdenden Energiemengen unterschätzte und somit zuließ, daß sie in Form von Wärme an die Umgebung abgestrahlt werden.

Über die bei mikrobiellen Stoffumsetzungsprozessen entstehenden Reaktionswärmemengen liegen bisher nur wenig Meßdaten vor. Als Grundlage für die Berechnung der frei werdenden Energie ist es in diesem Fall nur sinnvoll, den Verbrauch von Sauerstoff, gemessen als CSB, direkt heranzuziehen. Hierfür ist durch die Umrechnungsgleichung

1 g CSB ≙ 3,5 Kcal

für die Wärmeausbeute von Oxidationsprozessen eine für alle abzubauenden Stoffe geltende Proportionalität hergestellt (42). Die Wärmeentwicklungsberechnung wird somit unabhängig von der chemischen Zusammensetzung des Ausgangssubstrates und der chemischen Zusammensetzung während der einzelnen Abbauphasen.

2.1.2. Aerob-thermophile Mikroorganismen

Über die Arten aerob-thermophiler Mikroorganismen und deren Verhalten im flüssigen Milieu ist nur sehr wenig bekannt. Im Schrifttum der Abwassertechnik wird in diesem Zusammenhang meist nur von Bakterien oder Mikroorganismen allgemein gesprochen, ohne einzelne Arten zu nennen. Bedingt durch die Vielzahl der Mikroorganismen im Klärschlamm erscheint es deshalb sinnvoll, eine summarische Meßmethode zu benützen. Die biochemische Aktivität von Mikroorganismen, d.h. die Intensität der sich

bei ihnen abspielenden Stoffwechselvorgänge läßt sich an Hand der Dehydrogenasenaktivität bestimmen. Das Reduktionsvermögen einer Organismenpopulation ergibt sich aus Art und Menge der lebenden Organismen und deren Aktivitätszustand. Die Bestimmung der Menge des 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorids (TTC), die von den Organismen zu rotem Formazan (Abb.2) reduziert wird, bietet daher die Möglichkeit, die biochemische Leistung von Mikroorganismen zu messen.

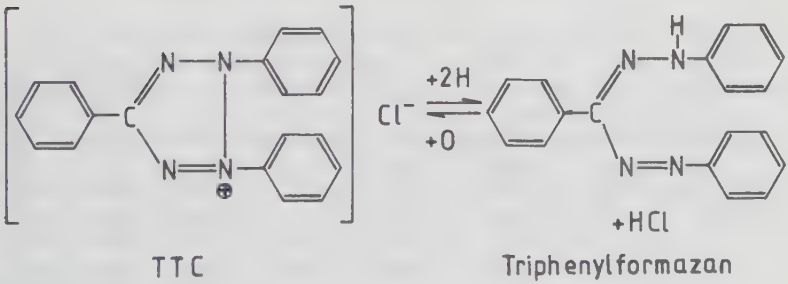


Abb. 2: Reaktion von TTC zu Formazan

Um die Leistungsfähigkeit von normalem Klärschlamm (aus der Kläranlage Kirchentellinsfurt) bei höheren Temperaturen zu untersuchen, wurde die Dehydrogenasenaktivität als Funktion der Temperatur gemessen. Die gleichzeitige

Bestimmung der Trockensubstanz des Belebtschlamms und des Glühverlusts läßt dann die Berechnung der spezifischen Aktivität,

$$A_B = \frac{E_{480} \cdot 18\,800}{TS \cdot GV}$$

angegeben in µg Formazan/g TS, zu.
In Tabelle 3 sind die Meßwerte dieser Reihe zusammengestellt.

T °C	E_{480}					TS g/l	GV %	A_B µg/g
	1	2	3	4	$\bar{x}$			
26	0,92	0,88	0,86	–	0,89	2,07	52	156
32	1,31	1,28	1,24	–	1,27	2,07	52	223
37	1,81	1,87	1,80	1,69	1,79	2,07	52	314
44	1,80	1,71	1,52	1,76	1,70	2,07	52	297
52	0,21	0,17	0,15	0,11	0,16	2,07	52	28

Tabelle 3: Spezifische Dehydrogenasenaktivität als Funktion der Temperatur.

Die Meßwerte aus Tabelle 3 zeigen deutlich, daß die De-

hydrogenasenaktivität von mesophilen Mikroorganismen bis 37°C stark ansteigt, bis 44°C annähernd gleich bleibt und darüber sehr rasch absinkt. Aus dieser Temperaturreihe geht weiterhin hervor, daß zumindest im Temperaturbereich von 26°C bis 37°C das van't Hoffsche Gesetz auch für biologische Abbauprozesse zu gelten scheint, nämlich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei einer Temperaturerhöhung von 10°C auf ungefähr das Doppelte der zugehörigen Ausgangsgeschwindigkeit ansteigt.

Um die Dehydrogenasenaktivität und damit die biochemische Leistungsfähigkeit mesophiler Bakterien über einen längeren Zeitraum bei höherer Temperatur zu erfassen, wurde von einer neuen Schlammprobe die Grundaktivität bei 24°C bestimmt. Gleichzeitig wurde die Aktivität bei 37°C sofort und in einer Zeitreihe nach 1,2,3 und 4 Stunden gemessen.

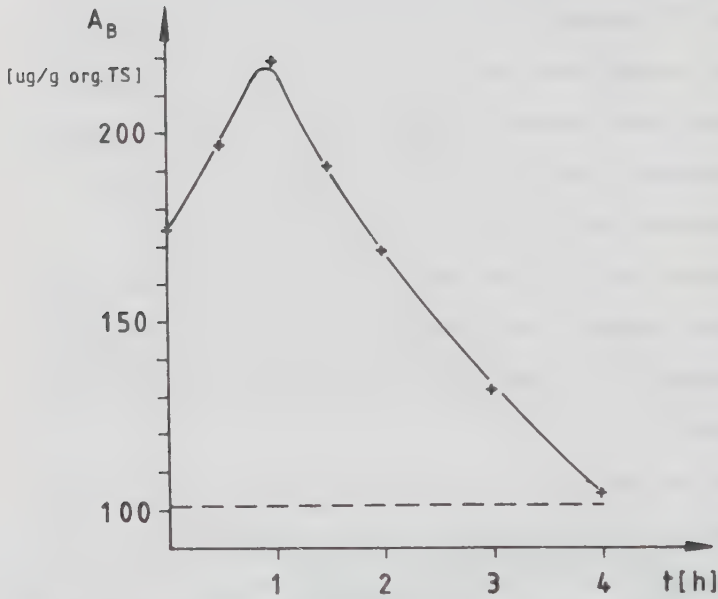


Abb. 3: Spezifische Dehydrogenasenaktivität als Funktion der Zeit bei 37° C +—+
Grundaktivität bei 24° C — — —

Aus Abbildung 3 läßt sich erkennen, daß die spezifische Dehydrogenasenaktivität bei 37°C gemessen 75 % höher liegt, als die bei 24°C gemessene Grundaktivität. Weiterhin wird ersichtlich, daß die Dehydrogenasenaktivität bereits nach 4 - stündigem Temperieren im Wasserbad bei 37°C wieder auf den Wert der Grundaktivität bei 24°C zurückgegangen ist.

Um zu überprüfen, ob die Steigerung der Dehydrogenasenaktivität bei einer Temperaturerhöhung auf Autolyse von Mikroorganismenzellen und somit auf einer Freisetzung von Dehydrogenasen beruht, wurde von einer neuen Belebtschlammprobe die Dehydrogenasenaktivität bei 24°C gemessen. Parallel dazu wurde eine gleiche Belebtschlammprobe unter Konstanthaltung der Temperatur von 24°C 10 Minuten mit 60 Watt Ultraschall behandelt und sofort die Dehydrogenasenaktivität gemessen.

	E_{480}					TS	GV	A_B
	1	2	3	4	$\bar{x}$	g/l	%	µg/g
Probe unbehandelt	0,75	0,74	0,76	0,75	0,75	2,21	54	118
Probe 10' beschallt	1,42	1,55	1,48	1,44	1,47	2,21	54	232

Tabelle 4: Einfluß von Ultraschall auf die Dehydrogenasenaktivität von Belebtschlamm.

Die Meßwerte aus Tabelle 4 machen deutlich, daß durch Ultraschallaufschluß von Bakterienmasse die Dehydro-

genasenaktivität sprunghaft auf das Doppelte ansteigt; das bedeutet, daß durch das Aufbrechen von Zellmembranen Dehydrogenasen freigesetzt werden, die dann nachgewiesen werden können. Das heißt weiterhin, daß bei dieser Methode der Messung von Dehydrogenasen scheinbar nur Exoenzyme erfaßt werden können. Außerdem liefert diese Methode keineswegs den Beweis für die Gegenwart lebender Zellen, da trotz Aufbrechens von Zellen und damit Absterben durch Ultraschall die Dehydrogenaseaktivität gegenüber der unbehandelten Probe stark ansteigt.

Dieses Ergebnis steht in Widerspruch zu den Angaben in den "Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung", wo diese Methode zur Bestimmung der biochemischen Aktivität, d.h. der biochemischen Leistung belebter Materie herangezogen wird.

In Ermangelung einer besseren Methode wurde diese trotzdem weiterhin beibehalten.

Um zu überprüfen, ob die Möglichkeit besteht eine "Adaption" von mesophilen Mikroorganismen an thermophile Bereiche durchzuführen, d.h. eine Selektion und Anreicherung von thermophilen Bakterien zu erreichen, wurde eine Belebtschlammprobe während 5 Wochen im

Wasserbad belüftet. Der Temperaturgradient betrug 1°C/Tag. Die Verdunstungsverluste wurden täglich ausgeglichen, der Verlust an organischer Trockensubstanz jeden zweiten Tag durch neue Bakterienmasse ergänzt.

Die Anreicherung von thermophilen Bakterien müßte sich durch eine Verschiebung des Maximums der Dehydrogenaseaktivität zu höheren Temperaturen äußern. Deshalb wurde eine Reihe weiterer Versuche durchgeführt, wobei die Dehydrogenaseaktivität als Funktion der Temperatur gemessen wurde.

T °C	E_{480}					TS g/l	GV %	A_B ug/g
	1	2	3	4	$\bar{x}$			
40	0,06	0,06	0,07	0,05	0,06	0,94	41	31
46	0,08	0,08	0,09	0,08	0,08	0,94	41	40
54	0,09	0,09	0,08	0,10	0,09	0,94	41	44
60	0,08	0,07	0,07	—	0,07	0,94	41	36
66	0,04	0,04		0,04	0,04	0,94	41	19

Tabelle 5 : Spezifische Dehydrogenasenaktivität als Funktion der Temperatur nach "Adaption" an höhere Temperaturen.

Zur besseren Vergleichbarkeit sind die spezifische

Dehydrogenaseaktivität von mesophilen Mikroorganismen aus Tabelle 2 und diejenige nach "Adaption" an den thermophilen Bereich aus Tab.5 in Abb. 4 graphisch dargestellt.

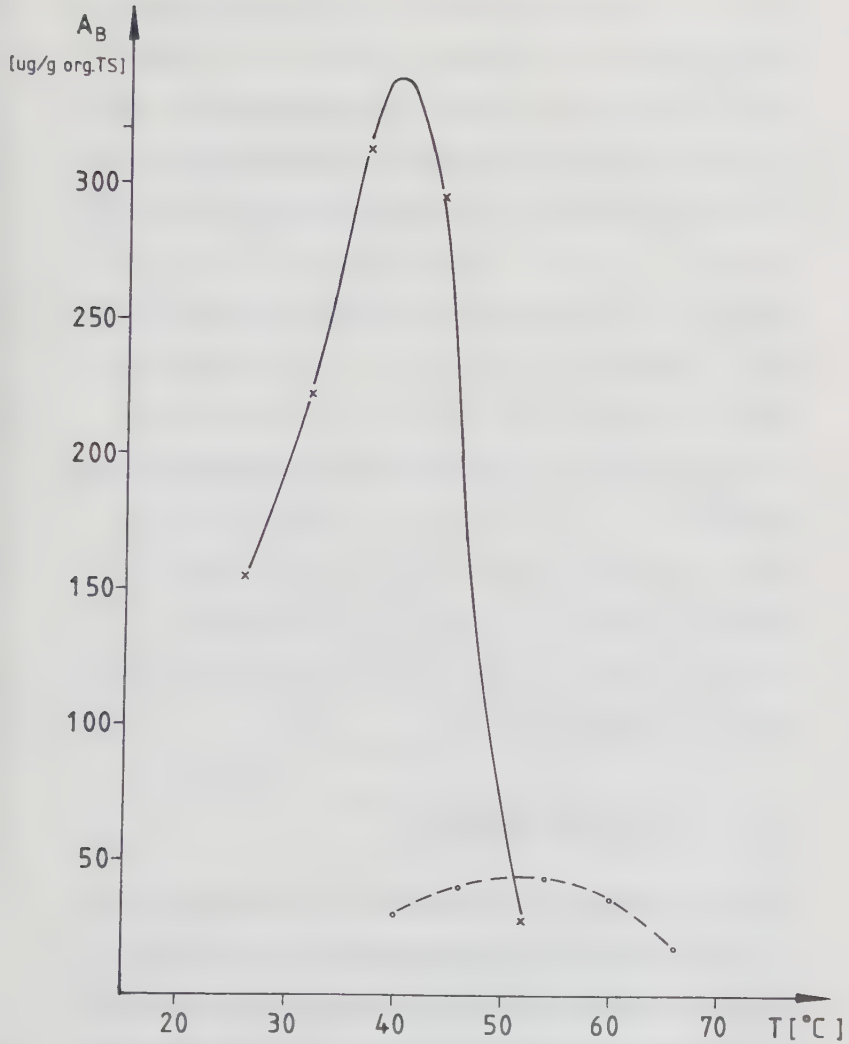


Abb. 4: Spezifische Dehydrogenasenaktivität als Funktion der Temperatur. Mesophile Bakterien ×———×
"Thermophile" Bakterien o— — —o

Wie daraus deutlich zu ersehen ist, wird tatsächlich das Maximum der Dehydrogenaseaktivität von 38°C nach 54°C verschoben; dies würde bedeuten, daß über einen längeren Zeitraum eine Selektion und Anreicherung von thermophilen Bakterien durch höhere Temperaturen möglich ist.

Betrachtet man jedoch die Absolutwerte der spezifischen Dehydrogenasenaktivität, so kann festgestellt werden, daß diese in der thermophilen Meßreihe insgesamt wesentlich niedriger liegen als bei mesophilen Mikroorganismen.

Setzt man jedoch Substrat in Form von lysierter Bakterienmasse zu, so steigt die Dehydrogenaseaktivität innerhalb von 20 Stunden auf den vierfachen Wert der Grundaktivität an.

2.2. Auswahl der Kläranlage

Um von vorneherein Kontaminationen zu vermeiden, war es wichtig, eine Kläranlage auszusuchen, deren Zulauf von Störfaktoren wie Ligninsulfonsäure (Sulfitablauge der papierverarbeitenden Industrie), phenolhaltigen Abwässern, allgemeinen Industrieabwässern oder sonstigen Spezialabwässern frei war.

Diese Bedingungen wurden im Raum Tübingen-Reutlingen

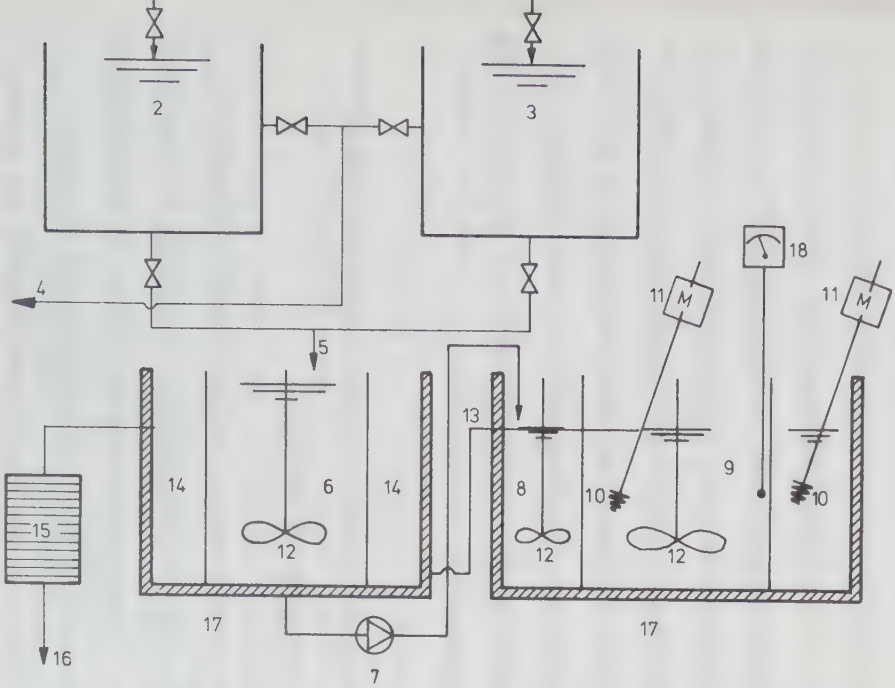
am besten vom Klärwerk in Kirchentellinsfurt erfüllt. 97 % der dort anfallenden Abwässer sind häusliche Abwässer, Grundwässer oder Wässer aus der Landwirtschaft. Die restlichen 3 % stammen aus einem Textilbetrieb und von einem metallverarbeitenden Unternehmen. Diese Industrieabwässer enthalten aber keine spezifischen Kontaminationen wie Farbstoffe, Säuren, Salze etc.

3. Aufbau der Versuchsanlage zur aerob-thermophilen Behandlung von Klärschlamm

Mit der in Abb. 5 gezeigten Versuchsanlage wurden sowohl Stand- als auch Durchlaufversuche gefahren.
Die Anlage besteht im wesentlichen aus zwei Schlammeindickern, einem Wärmeaustauscher, der zweistufigen aerob-thermophilen Behandlungseinheit und einer Filteranlage.
Der Wärmeaustauscher und die aerob-thermophile Stufe sind mit einer 5 cm dicken Glaswolle- bzw. Styroporschicht isoliert und bestehen aus Polypropylen. Auf eine Behälterabdeckung mit Isolierschicht wurde verzichtet, da die sich sehr schnell bildende Schaumschicht genügend Isoliereigenschaften besitzt.

3.1. Funktionsweise der aerob-thermophilen Versuchsanlage

Aus der Rücklaufschlammdruckleitung des Klärwerks Kirchentellinsfurt konnte direkt der Belebtschlamm über die Leitung 1 abwechselnd in die Eindicker 2 und 3 entnommen werden. Über die Leitung 4 konnte ebenfalls wechselseitig das Klarwasser aus den Eindickern abgezogen werden. In 3 Tagen konnte auf diese Weise der Belebtschlamm von ca. 6 g/l Trockensubstanz auf 35 - 40 g/l eingedickt werden. Der eingedickte Schlamm wurde über die Leitung 5 in den Wärmeaustauscher 6 abgelassen.Dieser diente gleichzeitig als Vorratsbehälter. Mit der Dickschlammpumpe 7 konnte dann die Bakterienmasse aus dem Vorratsbehälter in die 1. Stufe der aerob-thermophilen Behandlung gepumpt werden.Die Laufzeit der Dickschlammpumpe konnte über zwei Zeitschaltuhren sehr genau in weiten Bereichen variiert werden. Der Schlamm gelangt dann durch Öffnungen, die sich ca. 5 cm über dem Behälterboden befinden, in den inneren Teil der aerob-thermophilen Behandlung 9 (Stufe II). Die Sauerstoffzufuhr wurde durch je einen selbstansaugenden Schneckenbelüfter 10 gewährleistet. Auf die Probleme des Sauerstoffeintrags wird in Abschnitt 3.1.1. näher eingegangen. Zur besseren Durchmischung des Systems, vor allem der aerob-thermophilen Stufe I,



1 Zulauf Überschußschlamm
2 Eindicker V = 200 l
3 Eindicker V = 160 l
4 Klarwasserabzug
5 Dickschlammleitung
6 Wärmeaustauscher
7 Dickschlammpumpe
8 Aerob-thermophile Stufe I V = 90 l
9 Aerob-thermophile Stufe II V = 50 l
10 Schneckenbelüfter
11 Antriebsmotoren
12 Umwälzung
13 Auslauf aerob-thermophile Stufe II
14 Wärmeaustauscher
15 Filteranlage
16 Filtratauslauf
17 Isolierung
18 Temperaturmessung

Abb: 5 : Fließschema der Versuchsanlage zum aerob-thermophilen Abbau von Bakterienmasse

wurde noch eine Umwälzeinrichtung installiert. Der Temperaturverlauf in beiden Stufen wurde von Thermoelementen gemessen und auf einen Schreiber 18 übertragen. Der Sauerstoffgehalt wurde mit einer Sauerstoffelektrode gemessen.

Aus der Stufe II (9) fließt der noch warme Schlamm im freien Gefälle in den äußeren Behälter des Wärmeaustauschers (14), um den eingedickten Frischschlamm vorzuwärmen. Aus dem Wärmeaustauscher gelangt die behandelte Bakterienmasse in die Filteranlage (15). Das Filtrat wurde aufgearbeitet und daraus Huminsäuren isoliert, die dann zur Strukturaufklärung herangezogen wurden. Die Proben zur Bestimmung der Betriebsparameter der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung wurden einerseits an der Dickschlammpumpe 7 und andererseits aus der Leitung 13 entnommen.

3.1.1. Sauerstoffzufuhr bei der aerob-thermophilen Schlammstabilisierung.

Der unter ausreichender Sauerstoffzufuhr völlig geruchlos verlaufende enzymatische Aufschluß von Bakterienmasse und deren Abbau benötigt die für die Durchführung von intrazellularer Stoffwechseltätigkeit notwendige Sauerstoffmenge. Da dem System dauernd der gelöste

Sauerstoff entzogen wird, muß dieser ständig durch Zufuhr von Luftsauerstoff ersetzt werden. Wird die Belüftung unterbrochen, so entsteht ein Mangel an gelöstem Sauerstoff, bei dem dann die fakultativ aeroben Bakterien auch den für die Durchführung des Stoffwechsels notwendigen Sauerstoff aus den in dem Substrat ggf. enthaltenen Nitraten und Sulfaten abspalten und verwenden können. Da der aerob-thermophile Prozeß etwa zehnmal schneller verläuft als ein aerober Abbau und es sich hierbei außerdem um hochkonzentrierte Substrate handelt, die große Sauerstoffmengen in kürzester Zeit verbrauchen, muß das Belüftungssystem einerseits große Sauerstoffmengen in das Biosystem eintragen und andererseits das Belüftungsbecken so schnell in geeigneter Weise umwälzen, daß trotz starker Zehrung immer und an jeder Stelle des Systems eine ausreichende Sauerstoffkonzentration besteht. Die Geschwindigkeit der Sauerstoffzehrung des zu behandelnden Substrates bestimmt also die Intensität der Umwälzung und Sauerstoffzufuhr.

Diese Bedingungen erfüllt bei technischen Verfahren das Umwälzbelüftungsverfahren nach Fuchs. Da im Labormaßstab oder bei Pilotprozessen keinerlei derartige Geräte mit ähnlichen Spezifikationen zur Verfügung stehen, mußte versucht werden ein Aggregat zu entwickeln, das annähernd

die vorher genannten Bedingungen erfüllt.

In Abb. 6 ist der entwickelte Schneckenbelüfter dargestellt. Bei dem Schneckenbelüfter handelt es sich um einen elektrischen Antriebsmotor, dessen Anker und Welle durchbohrt wurden. An die durchbohrte Welle wurde eine Hohlwelle, die am Ende eine Schnecke trägt, angebracht. Die Schnecke fördert die zu behandelnde Flüssigkeit in einer Schraubenbewegung nach vorn, wodurch ein Unterdruck erzeugt wird, der durch die Hohlwelle Luft ansaugt und sie fein im Behälter verteilt. Zur Sicherheit wurde noch ein Anschluß angebracht, um bei eventuell auftretendem Sauerstoffdefizit mit Druckluft Sauerstoff einzutragen.

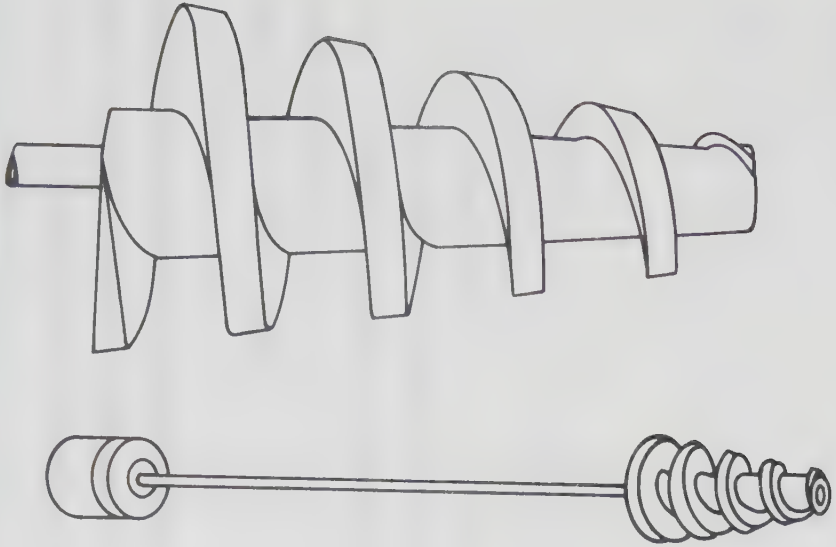


Abb. 6 : Schneckenbelüfter

4. Versuchsdurchführung

In mehreren Versuchsreihen wurde die Huminsäurebildung beim aeroben Abbau von Klärschlamm im Stand- und Durchlaufversuch bei unterschiedlicher Sauerstoffzufuhr untersucht. Neben der analytischen Bestimmung der HS wurden die Versuche über folgende Parameter kontrolliert:

Bakterienmasse	Filtrat
Trockensubstanz	NH_4^+
Glühverlust	NO_2^-
Temperatur des Reaktors	NO_3^-
Elementaranalyse der Bakterien	HS
	Elementaranalyse der HS

Hygienische Untersuchungen des behandelten Klärschlamms wurden nicht durchgeführt, da darüber bereits von anderen Autoren ausführlich berichtet wurde.

Der in der Kläranlage Kirchentellinsfurt anfallende Überschußschlamm (ca. 6 - 8 g/l TS) wurde direkt an der Pumpstation abgenommen und in den Eindickern innerhalb von zwei Tagen auf die gewünschte Bakterientrockensub-

stanz konzentriert. Nach Überführung des eingedickten Schlamms in den Reaktionsbehälter wurde bei jeweils konstanter Sauerstoffzufuhr die Bakterienmasse belüftet und umgewälzt.

4.1. Standversuch mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h (Sauerstoffdefizit)

Bei diesem Versuch wurde wie von Müller-Neuhaus beschrieben (40) von einem Sauerstoffbedarf von 0,7 kg O_2/kg org. TS ausgegangen.

Bei einem Schlammgehalt von 22,18 g org. TS/l beträgt die Schlammenge bei einem Volumen von 90 l 2,0 kg org. TS. Daraus errechnet sich ein täglicher Sauerstoffbedarf von 1,4 kg O_2 (2 kg org. TS · o,7 kg O_2/kg org. TS) und ein mittlerer stündlicher Sauerstoffbedarf (Q/24) von 58,2 g O_2.

Der Sauerstoffeintrag in den Reaktor erfolgte durch den vorher beschriebenen Schneckenbelüfter.

Wie zuvor durchgeführte Sauerstoffeintragsversuche zeigten, kann bei einer Eintragstiefe von 0,5 m mit einer Sauerstoffausnutzung von 8,6 % gerechnet werden.

Die atmosphärische Luft hat bei einer Temperatur von 20°C und einem Druck von 760 Torr einen Sauerstoffgehalt von 278 g/m^3. Der Sauerstoffeintrag/m^3 Luft

beträgt somit:

$$278 \text{ g/m}^3 \cdot 0{,}086 = 23{,}91 \text{ g/m}^3$$

Für den Reaktor wird folglich eine Luftmenge von

$$\frac{58{,}22}{23{,}91} = 2{,}43 \text{ m}^3/\text{h}$$

benötigt.

Die Betriebsdaten sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Zeit d	Bakterienmasse TS g/l	GV %	org.TS g/l	Elementaranalyse %C	%H	%N	%S	T °C	pH	Filtrat NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l	mg HS/l	Elementaranalyse HS %GR	%C	%H	%N	%S
0	28,8	77	22,18	43,0	6,4	7,35	2,15	14	7,7	73	nn.	nn.	119,2	11,2	–	–	–	4,66
2	26,7	75,4	20,13	40,3	5,8	7,16	1,37	16,5	7,7	210	nn.	nn.	155,2	11,3	–	–	–	4,68
5	25,0	73,1	18,28	–	–	–	–	21,5	7,7	270	nn.	33	245,2	11,5	36,2	5,5	4,90	3,20
7	22,1	75,4	16,67	38,1	5,3	6,62	1,34	20,5	7,7	281	nn.	50	369,8	10,9	36,5	5,3	4,09	1,61
9	21,9	74,1	16,22	42,4	6,3	7,14	1,45	21,0	–	395	nn.	63	456,1	–	–	–	–	–
14	20,1	68,6	13,79	38,6	5,2	6,73	1,19	21,0	7,8	460	1	183	604,2	11,2	35,3	5,4	4,80	2,85
20	18,8	68,6	12,91	39,1	5,6	6,77	0,95	19,5	7,8	322	nn.	340	763,7	–	–	–	–	–
26	18,5	69,3	12,84	37,4	5,3	6,91	1,49	14,0	7,8	273	nn.	492	873,2	11,5	34,6	5,6	5,52	5,41

Tabelle 6: Betriebsdaten des Standversuchs zur Bildung von HS beim aeroben Abbau von Klärschlamm mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h.

Wie aus den Meßwerten zu ersehen ist, nimmt die organische Trockensubstanz von 22,18 g/l auf 12,84 g/l ab. Die Elementarzusammensetzung der Bakterienmasse ändert sich hingegen nur geringfügig, wie am C/H - Verhältnis deutlich wird: es beträgt zu Beginn des Versuches 6,72 und nach 26 Tagen 7,07. Entsprechendes gilt für das C/N - Verhältnis der Bakterienmasse.

Die Temperatur im Reaktor stieg im Verlauf von 5 Tagen von 14 °C auf 21,5 °C, verblieb bis zum 20. Tag auf diesem Niveau und fiel dann wieder auf 14 °C ab. Der Grund für diesen Temperaturverlauf ist das Sauerstoffdefizit mit dem bei diesem Versuch gearbeitet wurde, d.h. der zugeführte Sauerstoff war der limitierende Faktor für den biologischen Abbau; deshalb konnte auch nicht mehr Wärme freigesetzt werden. Trotzdem ergab eine Wärmebilanz, daß ca. 65 % der freigesetzten Verbrennungswärme zur Aufheizung des Systems benützt wurden, während die restlichen 35 % der freigewordenen Energie durch Konvektion, Belüftung und Verdunstung abgeführt werden.

Die Huminsäurekonzentration stieg von 119,2 mg/l zu Beginn des Versuchs auf 873,2 mg/l am 26. Versuchstag an. Der relativ hohe Anfangswert der HS-Konzentration ist darauf zurückzuführen, daß durch den Eindickungsprozeß,

der mindestens zwei Tage dauert, eine begrenzte Autolyse von Bakterienzellen einsetzt und somit HS ins Medium freigesetzt werden (vgl. 1.1.).
Die Bakterientrockensubstanzabnahme und die Huminsäurezunahme ist in Abb. 7 als Funktion der Belüftungszeit graphisch dargestellt.
Daraus wird der Zusammenhang zwischen abgebauter Bakterienzellmasse und gebildeten Huminsäuren deutlich.
Bei diesem Standversuch wurden 8,07 % Huminsäuren / g abgebaute Bakterienmasse erhalten.

Durch den Abbau von Zellmasse bleibt naturgemäß NH_4^+ als Abbauprodukt von Proteinen im Wasser zurück. Dies wird auch aus den gemessenen Werten in Tab. 6 ersichtlich; da nur bei einer geringen BSB_5- Schlammbelastung (=0,15 kg/kg · d) eine zunehmende Nitrifikation ($NH_4^+ \longrightarrow NO_3^-$) stattfindet, ist die relativ spät einsetzende NH_4^+-Abnahme erklärbar.
Die NH_4^+-Werte steigen während des Versuchs bis zum 14. Versuchstag an und fallen dann aufgrund verstärkt einsetzender Nitrifikation wieder ab. NO_2^- als Zwischenprodukt bei der Nitrifikation konnte nur einmal in einer Konzentration von 1 mg/l gemessen werden.

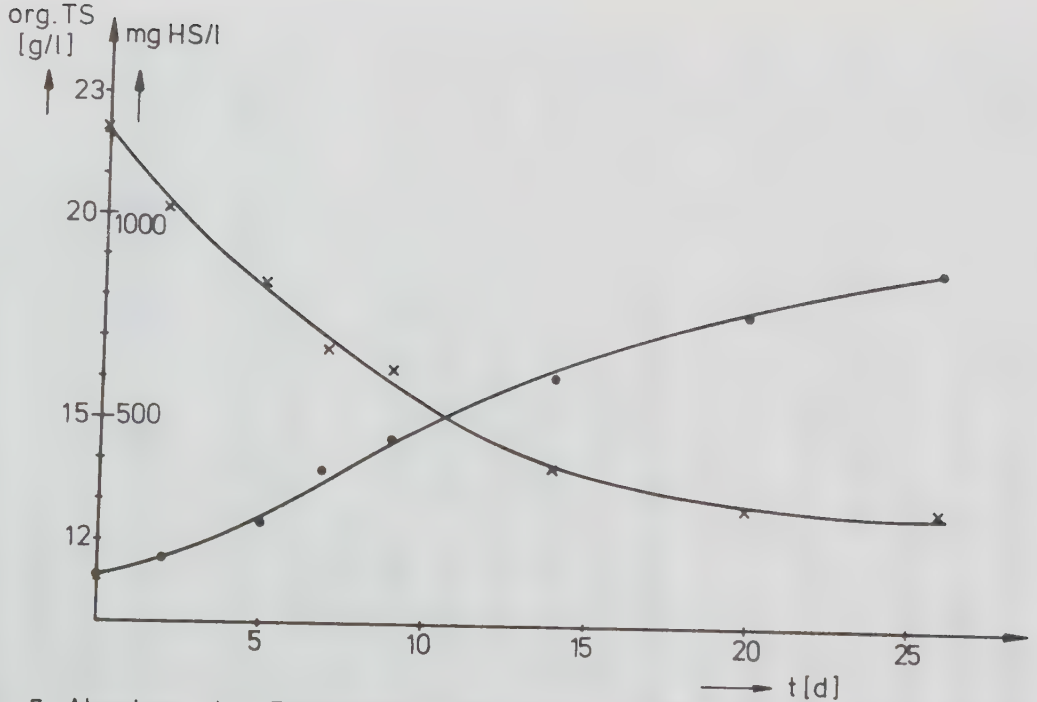


Abb. 7 : Abnahme der Bakterientrockensubstanz als Funktion der Belüftungszeit ×——×
Zunahme der HS-Konzentration als Funktion der Belüftungszeit ●——●

4.2. Standversuch mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h (Sauerstoffüberschuß)

Bei dieser Versuchsreihe wurde von einem Sauerstoffbedarf von 1,26 kg O_2/kg org. TS ausgegangen, d.h. die Luftzufuhr von 2,43 m^3/h wurde konstant gehalten und nur die Gesamtschlammenge verringert. Dabei wurde bei einer organischen Schlammkonzentration von ebenfalls 22,18 g/l und einem Volumen von 50 l nur 1,11 kg org. TS zum Versuch eingesetzt. Bei diesem Experiment ist also mit einem Sauerstoffüberschuß gearbeitet worden um zu erkennen, ob die gebildete Huminsäuremenge / g abgebaute Zellmasse entscheidend von der Sauerstoffzufuhr beeinflußt wird.

Die Betriebsdaten sowie die entsprechenden Meßwerte sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Die Meßwerte machen deutlich, daß die organische Trokkensubstanz im gleichen Maß abnimmt wie im oben beschriebenen Standardversuch bei dem mit einem Sauerstoffdefizit gearbeitet wurde. Die Elementarzusammensetzung der Bakterienmasse änderte sich ebenfalls nur wenig. Der Temperaturverlauf im Reaktor glich auch demjenigen im vorigen Versuch, obwohl der zugeführte Sauerstoff nicht der limitierende Faktor für die Abbaugeschwindigkeit gewesen ist. Bedingt durch die hohe

	Bakterienmasse									Filtrat									
Zeit	TS	GV	org.TS	Elementaranalyse				T	pH	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	mg HS/l	Elementaranalyse HS				
d	g/l	%	g/l	%C	%H	%N	%S	°C		mg/l	mg/l	mg/l		%GR	%C	%H	%N	%S
0	28,8	77	22,18	43,0	6,4	7,35	2,15	14	7,7	53	nn.	nn.	120,2	11,2	–	–	–	4,66
2	26,9	76,3	20,54	41,2	5,9	7,01	2,21	17,5	7,6	180	nn.	nn.	165,6	9,40	–	–	–	3,91
5	26,0	71,5	18,60	–	–	–	–	21,0	7,7	245	nn.	nn.	237,8	10,3	36,5	5,5	4,85	2,78
7	22,6	73,9	16,71	41,3	5,4	7,41	0,98	20,0	7,7	295	nn.	23	380,7	10,8	35,3	5,3	4,68	2,07
9	23,1	74,2	16,03	40,0	5,7	7,26	1,29	20,5	7,7	385	nn.	69	500,0	–	–	–	–	–
14	20,0	79,0	15,09	40,8	5,8	7,29	1,74	20,5	7,8	428	nn.	143	633,0	11,3	35,0	5,3	4,90	2,73
20	19,4	72,0	13,98	39,0	5,9	6,96	1,04	19,0	7,8	315	nn.	284	709,7	–	–	–	–	–
26	19,0	70,3	13,34	35,5	4,9	6,03	1,47	13,5	7,9	260	nn.	363	792,1	11,5	34,6	5,4	6,06	3,34

Tabelle 7: Betriebsdaten des Standversuchs zur Bildung von HS beim aeroben Abbau von Klärschlamm mit einer Luftzufuhr von 2,43 m^3/h.

Luftzufuhr (Sauerstoffüberschuß) stieg die Verdunstung stark an, so daß ein höherer Anteil als 35 % der freigesetzten Energie abgeführt wurde und deshalb weniger Energie zur Aufheizung des Systems zur Verfügung stand.

Die HS - Konzentration stieg von 120,2 mg/l am Versuchsbeginn auf 792,1 mg/l bis zum 26. Versuchstag an. Der Grund für die hohe HS - Anfangskonzentration ist der gleiche wie bei Versuch 4.1.

Die Abnahme der Bakterientrockensubstanz und die HS - Zunahme ist in Abb. 8 als Funktion der Belüftungszeit dargestellt.

Bei diesem Standversuch, der mit einem Sauerstoffüberschuß durchgeführt wurde, konnten 7,6 % Huminsäuren / g abgebaute Bakterienmasse erhalten werden. Dieser Wert von 7,6 % HS / g abgebaute Zellmasse liegt 5,8 % unterhalb demjenigen aus Versuch 4.1., obwohl hier mit der doppelten Sauerstoffzufuhr gearbeitet wurde. Die beiden Werte können als identisch angesehen werden, da die Abweichung innerhalb der normalen biologischen Streuung liegt.

Daraus folgt: die Huminsäurebildung beim biologischen Abbau von Klärschlamm hängt nicht von der Sauerstoffzufuhr ab; d.h. weiterhin, daß die Reaktion zur Bildung

von Huminsäuren nicht über eine Oxidation mit Luftsauerstoff verläuft.

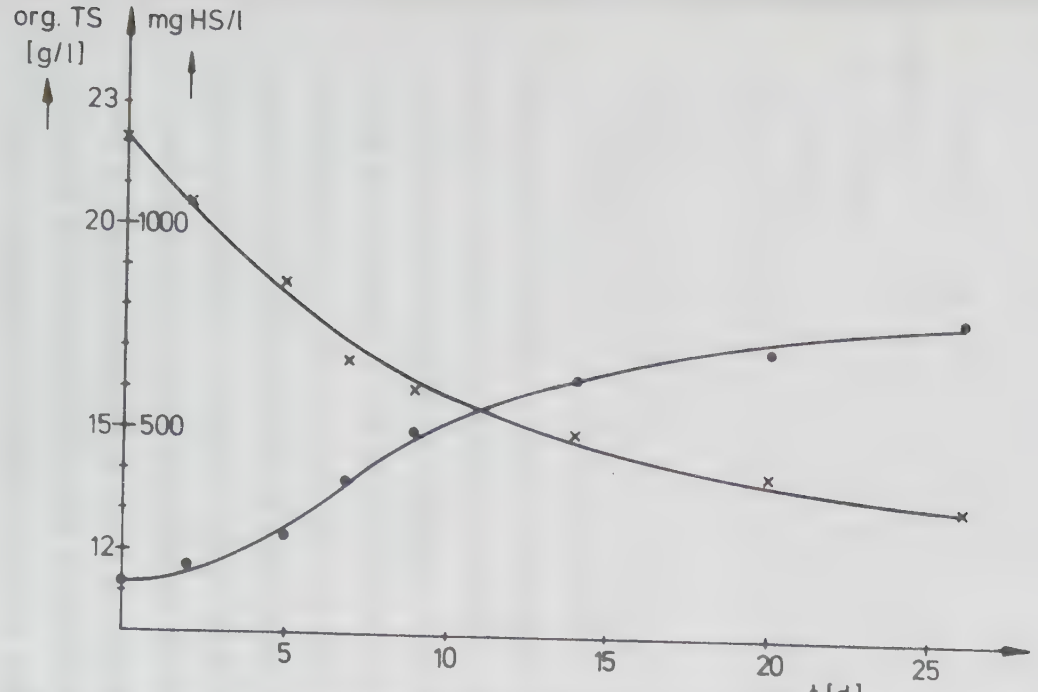


Abb. 8 :Abnahme der Bakterientrockensubstanz als Funktion der Belüftungszeit ×—×
Zunahme der HS/Konzentration als Funktion der Belüftungszeit ●—●

Das beim biologischen Abbau von Bakterienmasse freigesetzte NH_4^+ steigt während der Versuchsreihe ebenfalls wie unter 4.1. beschrieben an, um dann infolge einsetzender Nitrifikation gegen Ende des Versuchszeitraumes wieder abzufallen. Interessant ist, daß die NH_4^+- und NO_3^--Werte im allgemeinen niedriger liegen als bei der Versuchsreihe 4.1. mit Sauerstoffdefizit. Bei der hohen Luftzufuhr dieses Versuches machte sich bereits ein gewisser Strippeffekt bemerkbar: es konnte mehrfach NH_3 in der Abluft des Systems nachgewiesen werden.

4.3. Standversuch zur Optimierung der Reaktionstemperatur im aerob-thermophilen System

Wie die Ergebnisse der beiden vorherigen Versuche zeigen, ist es äußerst schwierig bei konstanter Luftzufuhr den Abbau von Klärschlamm im aerob-thermophilen Temperaturbereich durchzuführen, da einerseits bei einem vorliegenden Sauerstoffdefizit dieses als limitierender Faktor für den Abbau wirkt und somit nicht genügend "Verbrennungswärme" freigesetzt werden kann,um den eingedickten Schlamm auf über 45 °C aufzuheizen und andererseits bei einem Sauerstoffüberschuß die Verdunstungsverluste sehr stark zunehmen und dadurch ein wesentlich größerer Anteil der freigesetzten Wärme-

menge verloren geht.

Aus diesem Grund wurde die Luftzufuhr über ein Sauerstoffmeßgerät mit gekoppeltem Schreiber und Magnetventil so geregelt, daß immer eine Sauerstoffkonzentration von 0,1 - 0,3 mg/l garantiert war. Der Versuch wurde bei einer Schlammkonzentration von 23,18 g org. TS/l gestartet (V=90 l). Diese Schlammkonzentration wurde wieder ähnlich der aus den vorigen Versuchen gewählten Konzentration eingestellt, um möglichst ähnliche Betriebsbedingungen zu gewährleisten. Die Meßwerte dieser Versuchsreihe sind in Tab. 8 zusammengestellt.

Daraus ist wiederum der eindeutige Zusammenhang zwischen der Abnahme der Bakterienmasse und der Zunahme der Huminsäuren zu ersehen. Die Konzentration an Huminsäuren stieg von 45 mg/l auf 698 mg/l innerhalb von 5 Tagen an. Die Temperatur stieg von 13,5 °C auf 34 °C an und fiel dann wieder auf 28 °C am 5. Versuchstag ab.

Die Abnahme der Bakterientrockensubstanz sowie die Bildung von Huminsäuren und der Temperaturverlauf im Reaktor sind in Abb. 9 als Funktion der Belüftungszeit dargestellt.

Bei dieser Standardversuchsreihe konnten pro g abgebaute Zellmasse 19,8 % Huminsäuren isoliert werden.

Das durch den Abbau an Protein aus Zellmasse freigesetzte NH_4^+ steigt während der Versuchsreihe ebenfalls an. Trotz einsetzender Nitrifikation, wie an den NO_3^--Werten abgelesen werden kann, ist eine Abnahme der NH_4^+-Konzentration nicht festzustellen.
Der pH-Wert stieg von 8,3 auf 8,6 am Ende der Versuchsreihe.

Zeit d	Bakterienmasse					Filtrat				
	TS g/l	GV %	org.TS g/l	T °C	T_R °C	NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l	pH	HS mg/l
0	36,2	64,1	23,18	13,5	13	26	nn.	nn.	8,3	45
1	35,7	63,1	22,56	19,5	13	217	nn.	nn.	8,4	160
2	35,3	61,3	21,65	27	11	245	nn.	nn.	8,7	312
3	35,1	61,0	21,09	34	11	324	nn.	nn.	8,7	464,8
4	33,8	60,5	20,45	30	11	396	nn.	37	8,7	596
5	33,1	60,0	19,88	28	13	440	nn.	89	8,6	698,2

Tabelle 8 : Standversuch zur Optimierung der Reaktionstemperatur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm.

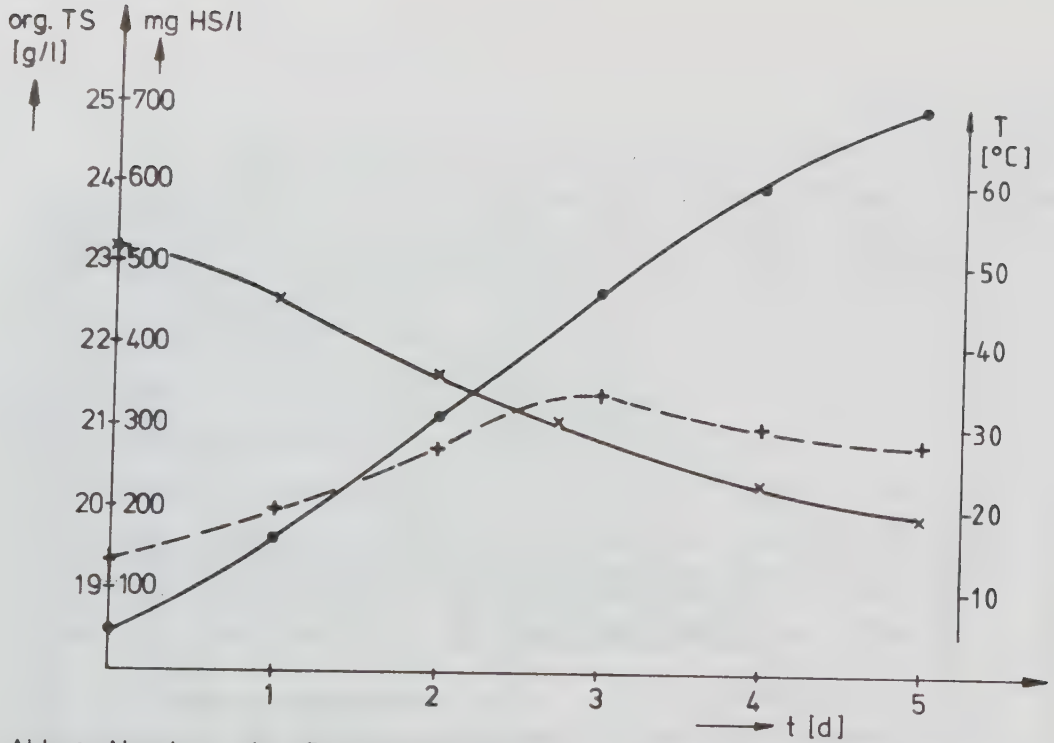


Abb. 9 :Abnahme der Bakterientrockensubstanz als Funktion der Belüftungszeit ×——×
Zunahme der HS-Konzentration als Funktion der Belüftungszeit ●——●
Temperaturverlauf im Reaktor +– – –+

4.4. Standversuch zur weiteren Steigerung der Reaktionstemperatur im aerob-thermophilen System

Die Luftzufuhr wurde wie im Versuch 4.3. beschrieben, so geregelt, daß eine Sauerstoffkonzentration von 0,1 mg/l nicht unterschritten bzw. 0,3 mg/l nicht überschritten wurde. Dieser Versuch wurde in der Stufe II (V = 50 l) des aerob-thermophilen Systems durchgeführt, während in der Stufe I ebenfalls ein aerob-thermophiler Abbau stattfand, der nur dazu diente, die Wärmeverluste der Stufe II durch eigene "Verbrennungswärme" so gering wie möglich zu halten und damit eine höhere Reaktionstemperatur in Stufe II zu erreichen.

Der Versuch wurde bei einer Schlammkonzentration von 22,84 g org. TS/l gestartet und während 5 Tagen analytisch kontrolliert.

Die Betriebsdaten und Meßwerte sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Die Abnahme der Bakterienmasse, sowie die Bildung von Huminsäuren verläuft sehr ähnlich wie im Versuch 4.3. Die HS-Konzentration stieg von 154,8 mg/l zu Beginn des Versuchs auf 939 mg/l am 5. Versuchstag an, dabei entfielen pro g abgebaute Zellmasse 24,5 % Huminsäuren.

Die Temperatur im Reaktor stieg von 13,5 °C auf

	Bakterienmasse					Filtrat				
Zeit d	TS g/l	GV %	org.TS g/l	T °C	T_R °C	NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l	pH	HS mg/l
0	36,3	62,9	22,84	13,5	13	147	nn.	nn.	8,3	154,8
1	36,2	62,2	22,52	20,5	13	227	nn.	nn.	8,2	193,6
2	35,2	62,1	21,89	30,5	11	320	nn.	nn.	8,5	290
3	35,0	61,7	20,98	40	13	355	nn.	9	8,6	404,8
4	33,5	60,5	20,25	34,5	11	375	nn.	29	8,6	680,5
5	33,1	59,3	20,08	30	13	412	nn.	61	8,5	939,1

Tabelle 9 : Standversuch zur weiteren Steigerung der Reaktionstemperatur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm.

40 °C am 3. Versuchstag und fiel dann auf 30°C am 5. Tag ab.

Die Bildung von NH_4^+ und NO_3^- beim Abbau verlief entsprechend dem Versuch 4.3.

Der pH - Wert stieg von 8,3 auf 8,6 bzw. 8,5.

In Abb. 10 ist die Abnahme der Bakterienmasse, die Zunahme der gebildeten Huminsäuren, sowie der Temperaturverlauf im Reaktor graphisch dargestellt.

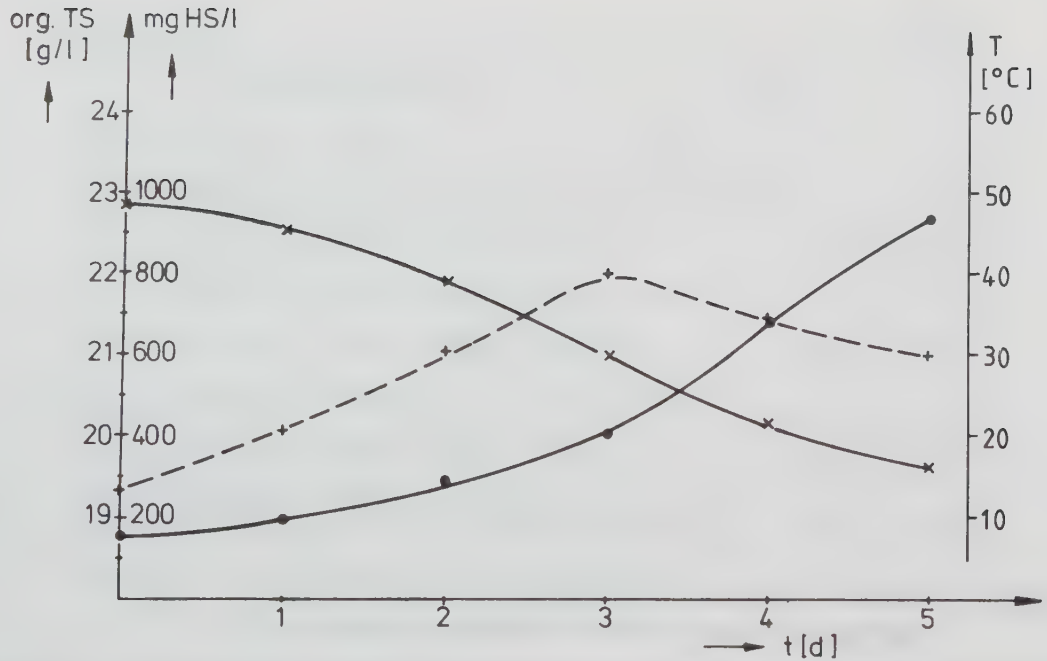


Abb. 10 : Abnahme der Bakterientrockensubstanz als Funktion der Belüftungszeit ×——×
Zunahme der HS-Konzentration als Funktion der Belüftungszeit ●——●
Temperaturverlauf im Reaktor +– – –+

4.5. Standversuch zur Bildung von HS beim aerob-thermophilen Abbau bei weiterer Steigerung der Reaktionstemperatur

Die Versuchsbedingungen, wie Luftzufuhr und Isolierung des Systems (Abbau in Stufe II, mit Isolierung durch thermophilen Abbau in Stufe I) wurden wie in 4.4. eingestellt. Zur Erzielung von noch höheren Reaktionstemperaturen wurde der Schlamm stärker eingedickt und der Versuch mit einer Schlammkonzentration von 35,7 g org. TS/l als Startwert durchgeführt und ebenfalls 5 Tage analytisch kontrolliert. Bei diesen Schlammkonzentrationen wurde die Grenze der Durchführbarkeit derartiger Versuche erreicht; bedingt durch die relativ hohe Viskosität des Schlamm - Wasser - Gemisches ist eine ausreichende Sauerstoffzufuhr sowie eine gute Umwälzung mit den dazu eingesetzten Aggregaten nur noch mit Mühe zu gewährleisten.

Die Betriebsdaten und die Meßwerte sind in Tabelle 10 dargestellt.

Die Abnahme der Bakterienmasse sowie die Zunahme der Huminsäuren während der Versuchsdauer entsprechen den Ergebnissen der vorigen Versuche, nur daß bei diesen Schlammkonzentrationen ein sehr schneller Abbau einsetzt und der aerob-thermophile Bereich bereits nach kurzer

	Bakterienmasse					Filtrat				
Zeit d	TS g/l	GV %	org.TS g/l	T °C	T_R °C	NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l	pH	HS mg/l
0	48,0	73,1	35,10	12,5	11	54	nn.	nn.	8,1	102
1	47,8	72,3	34,55	25,5	11	159	nn.	nn.	8,4	209
2	47,0	71,1	33,42	39,5	11,5	263	nn.	nn.	8,7	420
3	45,1	70,7	31,88	50,5	11	355	nn.	43	8,7	757
4	43,6	70,0	30,52	54	12	400	nn.	87	8,7	1212
5	43,0	69,0	29,70	47	12	463	nn.	103	8,8	1573

Tabelle 10: Standversuch zur Maximierung der Reaktionstemperatur beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm.

Zeit erreicht ist. Die HS - Konzentration stieg von 102 mg/l auf 1573 mg/l an. Es wurden also pro g abgebaute Bakterienmasse bei dieser Reaktionstemperatur 29,5 % Huminsäuren gefunden.

Die Temperatur im Reaktor lag bei Versuchsbeginn bei 12,5 °C und stieg bis auf 54 °C am 4. Versuchstag an und fiel dann auf 47 °C am 5. Tag ab.
Die Bildung von NH_4^+ und NO_3^- entspricht praktisch den Ergebnissen der vorigen Versuche.
Der pH - Wert erreichte bei diesem Versuch 8,8 (Start: pH 8,1).
In Abb. 11 ist die Abnahme der Bakterientrockensubstanz sowie die Bildung von Huminsäuren und der Temperaturverlauf im Reaktor als Funktion der Zeit dargestellt.

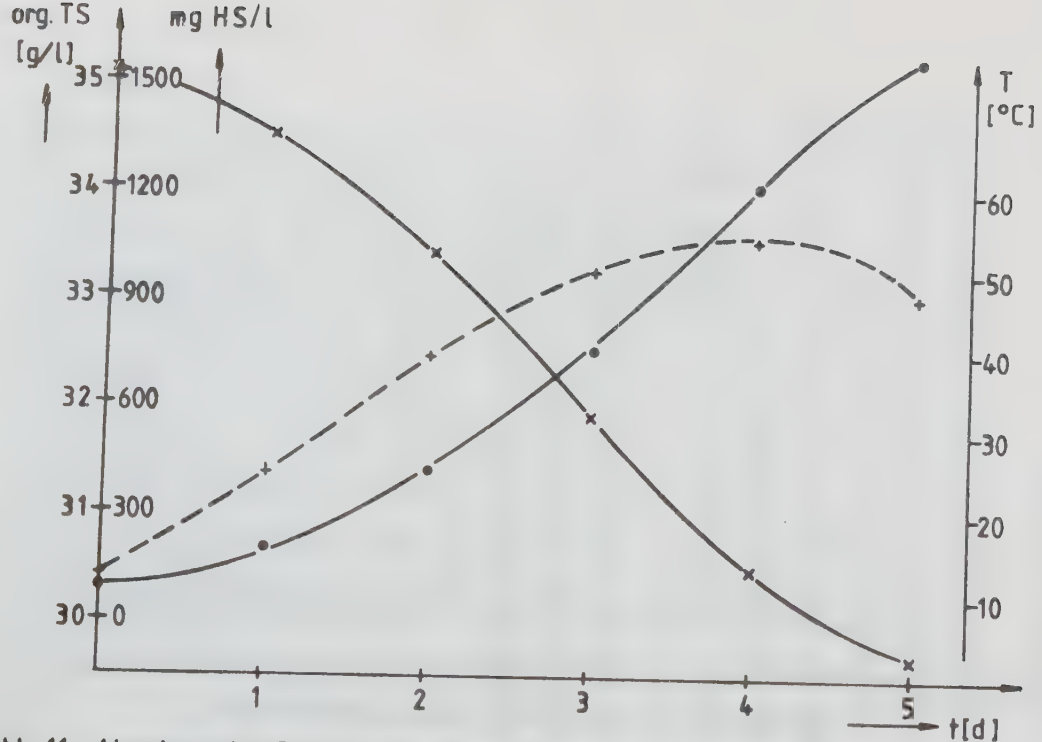


Abb. 11 : Abnahme der Bakterientrockensubstanz als Funktion der Belüftungszeit ×——×
Zunahme der HS-Konzentration als Funktion der Belüftungszeit •——•
Temperaturverlauf im Reaktor +– – –+

Trägt man nun die gebildete Huminsäuremenge pro g abgebaute Bakterientrockensubstanz gegen die maximal erreichte Reaktionstemperatur der einzelnen Standversuche auf, so erhält man eine interessante Funktion. Die gebildete Menge HS pro g abgebaute Zellsubstanz steigt mit steigender Temperatur des Reaktors (bis ca. 30 °C) langsamer an und nimmt im thermophilen Temperaturbereich stärker und fast linear zu (Abb. 12).

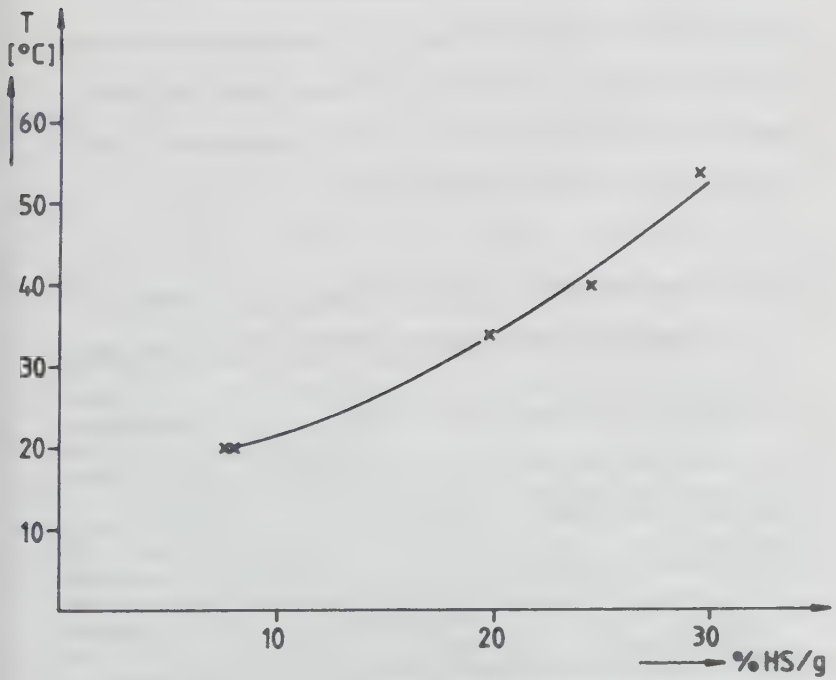


Abb. 12 : gebildete Huminsäure in % pro g abgebaute Bakterienmasse als Funktion der maximal erreichten Reaktionstemperatur.

Aus der Form der Funktion kann geschlossen werden, daß bei höheren Temperaturen vermehrt Huminsäuren in der Zellmembran gebildet werden, da gleichzeitig sich die Exoenzymkonzentration der Bakterien (vgl. 2.1.2.) während der Versuchsreihen nur geringfügig verändert, der Abbau von Bakterienmasse bei höheren Temperaturen aber schneller verläuft. Dies muß dahingehend gedeutet werden, daß die Zellen vermehrt HS zum Schutz gegen Autolyse bei höheren Temperaturen in die Membran einbauen.
Aus diesem Grund läßt sich auch die Bakterienmasse nicht vollständig abbauen, sondern es verbleibt immer ein gewisser Teil an Mikroorganismen, die einem weiteren Abbau nur sehr schlecht zugänglich sind.

4.6. Durchlaufversuch zur Bildung von Huminsäuren beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm

Die Versuchsbedingungen wie Luftzufuhr, Aufenthaltszeit und Schlammkonzentration wurden analog den vorher durchgeführten Standversuchen gewählt. So wurde die Luftzufuhr wieder so geregelt, daß eine Sauerstoffkonzentration von 0,1 - 0,3 mg/l gewährleistet war. Die Schlammkonzentration betrug während der gesamten Versuchszeit ca. 34 - 36 g/l, das entsprach einer Bakterientrockensubstanz von ca. 20 g/l. Die mittlere Aufenthaltszeit des

eingedickten Überschußschlamm im aerob-thermophilen System wurde aufgrund der vorigen Versuche , bei denen ein Temperaturmaximum nach 3 - 4 Tagen (je nach Schlammkonzentration) erreicht wurde, ebenfalls auf 4 Tage festgesetzt. Der eingedickte Frischschlamm wurde außerdem im Vorwärmer durch bereits dem Abbau unterzogenen Schlamm vorgewärmt, um möglichst geringe Wärmeverluste durch kalten eingedickten Überschußschlamm zu erhalten. Die Versuchsdauer betrug 20 Tage; während dieser Zeit wurde der Versuch analytisch auf den Sauerstoffgehalt, die Gesamttrockensubstanzmenge (TS), den Gehalt an organischer Trockensubstanz, die Außentemperatur (T_A), die Zulauftemperatur vor dem Wärmeaustauscher (T_V), sowie nach dem Wärmeaustauscher (T_Z), die Reaktortemperatur in Stufe I (T_1) und Stufe II (T_2), NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, pH und HS-Konzentration untersucht. Die Betriebsdaten und Meßwerte sind in Tabelle 11 zusammengefaßt.

Die Abnahme der Bakterientrockensubstanz entsprach in etwa der in den vorigen Standversuchen. Die Außentemperatur lag in der Regel zwischen 10,5 °C und 15 °C. Die Zulauftemperatur des eingedickten Schlamms vor dem Wärmeaustauscher schwankte zwischen 9,5 °C und 11 °C. Nach dem Wärmeaustauscher betrug sie nahezu konstant

	Zulauf						Reaktor Stufe I		Reaktor Stufe II		Auslauf							
Zeit d	T_A °C	T_V °C	T_Z °C	TS g/l	GV %	org.TS g/l	T_1 °C	O_2 mg/l	T_2 °C	O_2 mg/l	NH_4^+ mg/l	NO_2^- mg/l	NO_3^- mg/l	pH	TS g/l	GV %	org.TS g/l	HS mg/l
0	13,5	9,5	14,5	41,2	70,7	29,13	9,5	0,1	9,5	0,1	43	nn.	nn.	8,1	-	-	-	-
1	13,5	9,5	17	42,0	71,2	29,90	14,5	0,2	21	0,1	79	nn.	nn.	8,1	-	-	-	-
2	13,5	9,5	19	40,7	70,0	28,49	17,5	0,2	26,5	0,1	104	nn.	nn.	8,2	-	-	-	-
3	14,5	10	21	42,5	72,4	30,77	23,5	0,2	37	0,1	171	nn.	nn.	8,4	38,2	70,0	26,72	718
4	14,5	10	22	43,4	73,0	31,68	32,5	0,1	43,5	0,1	249	nn.	nn.	8,6	-	-	-	779
5	14,5	10	22	40,0	74,1	29,64	44,5	0,1	48	0,1	303	nn.	nn.	8,7	36,1	72,4	26,14	831
6	14,5	10	22	41,2	73,0	30,08	46	0,0	52,5	0,3	354	nn.	35	8,7	-	-	-	852
7	14,5	10	22	43,0	71,4	30,70	46	0,1	53,5	0,3	391	nn.	67	8,7	38,3	71,5	27,35	874
8	13,5	10	22	44,1	70,7	31,18	47	0,2	54	0,2	440	nn.	91	8,9	38,5	71,3	27,65	912

Tabelle 11: Betriebsdaten und Meßwerte vom Durchlaufversuch zur Bildung von Huminsäuren beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm.

Zeit	Zulauf						Reaktor Stufe I		Reaktor Stufe II		Auslauf							
	T_A	T_V	T_Z	TS	GV	org.TS	T_1	O_2	T_2	O_2	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	pH	TS	GV	org.TS	HS
d	°C	°C	°C	g/l	%	g/l	°C	mg/l	°C	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l		g/l	%	g/l	mg/l
9	13,5	9,5	22	42,7	72,3	30,87	47,5	0,2	53	0,2	406	nn.	143	9,0	39,7	70,7	28,10	971
10	13,5	9,5	21,5	41,5	72,7	30,17	46,5	0,3	51	0,2	432	nn.	112	9,1	39,3	69,7	27,42	1011
11	15,5	10,5	21	42,1	71,4	30,06	46	0,3	50	0,2	471	nn.	135	9,0	36,9	71,3	26,33	1035
12	15,5	11,5	21	43,4	70,9	30,77	45	0,3	50,5	0,2	412	nn.	146	8,9	34,7	71,9	24,92	1020
13	15,5	11,5	21	42,0	71,3	29,95	44,5	0,3	51	0,3	395	nn.	127	9,0	39,2	69,9	27,37	979
14	15,5	11,5	21	41,4	71,7	29,68	45	0,3	51,5	0,2	440	nn.	110	8,7	41,0	69,8	28,65	977
15	15,5	11,5	21	42,0	73,1	30,70	45	0,2	52	0,2	457	nn.	165	8,9	40,2	70,9	28,47	1016
16	13	11	21	40,5	72,6	29,40	45,5	0,2	52	0,1	425	nn.	140	9,1	37,2	71,3	26,53	1021
17	13	10	20,5	39,7	72,1	28,62	45,5	0,2	52	0,1	417	nn.	117	9,0	38,0	72,1	27,41	997
18	12,5	10	20,5	42,3	71,7	30,33	45,5	0,2	52	0,1	400	nn.	124	8,9	36,1	70,1	25,32	986
19	10,5	9	20,5	43,0	70,4	30,27	45	0,1	52	0,1	473	nn.	147	9,0	38,4	69,7	26,77	981
20	15,5	11	20,5	41,2	72,5	29,87	44,5	0,2	51	0,2	461	nn.	135	9,0	38,7	71,4	27,63	980

Tabelle 11: Fortsetzung

21,5 °C. Die Temperatur in Stufe I des Reaktors erreichte nach 5 Tagen 44,5 °C, die mit geringen Schwankungen gehalten wurde. In der Stufe II des Reaktors lag die Reaktionstemperatur meistens 4 - 10 °C über der Temperatur der Stufe I.

Die Huminsäuren im Filtrat des eingedickten Schlamms erreichten eine Konzentration zwischen 53 mg/l und 112 mg/l. Die Konzentration im Filtrat des Auslaufs beginnend am 3. Versuchstag bei 718 mg/l stieg innerhalb von 7 Tagen auf 1035 mg/l an und pendelte sich dann auf ca. 980 mg/l ein. Die Bildung von NH_4^+ stieg anfänglich steil an und verblieb dann auf einem fast konstanten Wert, ähnlich die NO_3^- - Konzentration. NO_2^- konnte in keinem Fall nachgewiesen werden. Der pH - Wert stieg von 8,1 auf 9,0 an und bewegte sich dann zwischen 8,7 und 9,1.

In Abb. 13 sind die wichtigsten Meßwerte graphisch dargestellt.

Bei diesem Durchlaufversuch wurden im Mittel 31,9% Huminsäuren/g abgebaute Bakterienmasse gebildet und nachgewiesen. Dieser Wert entspricht sehr genau dem aus Versuch 4.5., dies war auch zu erwarten, da sowohl im Standversuch als auch im Durchlaufversuch die gleichen Reaktionstemperaturen beim Abbau im Reaktor erreicht wurden.

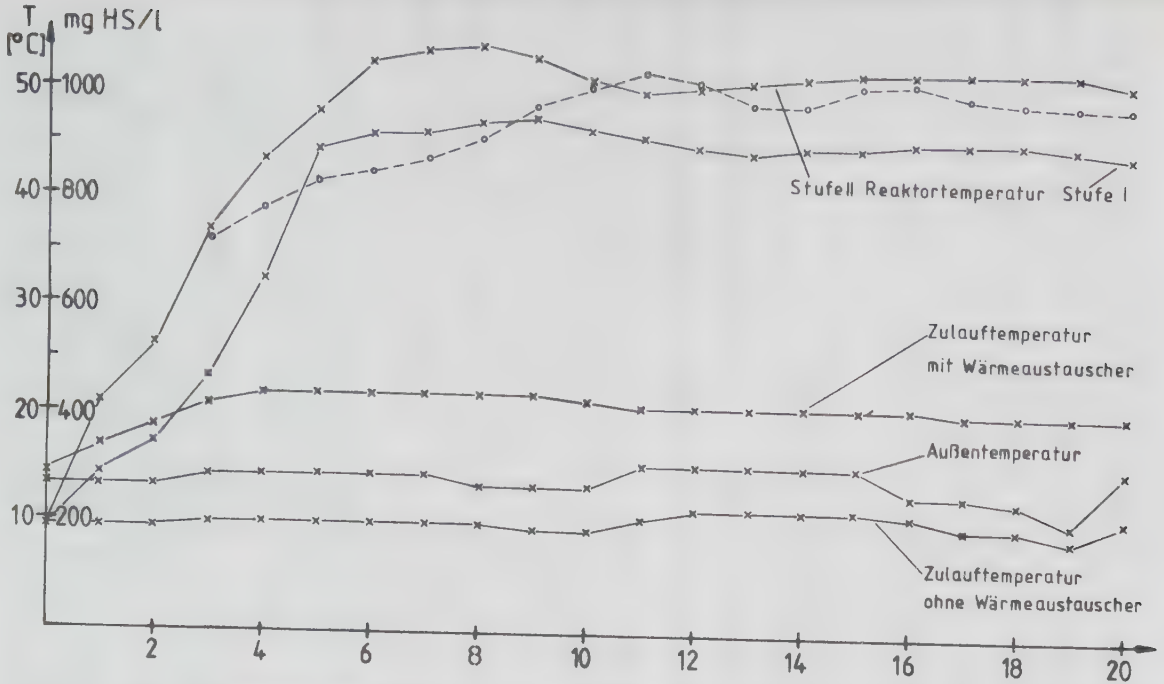


Abb. 13: Aerob-thermophiler Abbau von Klärschlamm im Durchlaufversuch.
Temperaturverlauf ×——× Huminsäure-Konzentration o- - - -o

5. Isolierung von Huminsäuren

Bei der Untersuchung von Naturstoffen spielt die Isolierungs- und Reinigungsmethode eine entscheidende Rolle. Sie soll zum einen möglichst effektiv sein, zum anderen müssen dabei Kontaminationen sowie Veränderungen im Naturstoffmolekül ausgeschlossen werden.

5.1. Isolierung mit Lauge

Die gängigste Methode zur Isolierung von Huminsäuren ist das Auslaugen von Bodenproben mit Alkali. Dabei läßt man 0,5 %ige wäßrige Natronlauge mehrere Stunden auf die Proben einwirken, filtriert und erhält so durch Einrotieren bei Zimmertemperatur die "Roh-Huminsäure".
Bei dieser Isolierungsmethode ergeben sich zwei Schwierigkeiten, die eine exakte Analyse der Huminsäuren zweifelhaft machen

a) das Huminsäure - Molekül wird bereits durch Hydrolyse oder durch Oxidation verändert
b) andere organische und anorganische Substanzen werden mitextrahiert.

In der Tat wurden Veränderungen am HS - Molekül bei Extraktion mit Alkali beobachtet. So ist z.B. die Aufnahme von Sauerstoff und die Abgabe von Kohlendioxid

festgestellt worden. Außerdem kann eine Autoxidation der Huminsäuren bzw. ein Beginn der Hydrolyse und der Decarboxylierung bei Luftzufuhr eintreten (45, 46). Auch der Versuch einer Stabilisierung des Extrakts mit Zinn-II-chlorid brachte keine Verbesserung, da es selbst ein starkes Reduktionsmittel ist und seinerseits zu Reaktionen mit dem Huminsäure - Molekül führen kann. Außerdem werden Metallhydroxide, Kohlenhydrate, Proteine und Fettsäuren als Verunreinigungen mitextrahiert.

5.2. Isolierung mit Säure

Ähnliche Schwierigkeiten ergaben sich bei der Isolierung durch Ausfällung von Huminsäuren mit Salzsäure oder Fluorwasserstoff. Die Säure greift nicht nur die peripheren Bausteine des Huminsäure - Moleküls an und spaltet Bruchstücke ab, die unter Umständen weiterreagieren und Artefakte bilden können, sondern auch den "Kern", der dadurch erheblich verändert wird (wasserunlöslich und dgl.).

Diese Methode wird heute noch vielfach zur Isolierung und Reinigung von Huminsäuren eingesetzt (47), was aber - unter Berücksichtigung der Nebeneffekte - nicht empfehlenswert ist.

5.3. Andere Isolierungsmethoden

Die Ausfällung von Huminsäuren mit Salzen, wie z.B. mit 0,1 m $Na_4P_2O_7$ in wässriger Lösung bei pH 7,0 oder mit Na_3PO_4 und Na_2CO_3 hat sich nicht bewährt, denn

- a) das HS-Molekül komplexiert die Salze und bei deren Abtrennung mit Säure werden wieder Veränderungen im Molekül hervorgerufen (vgl. 5.2.)
- b) andere Komplexbildner können mitisoliert werden.

Ebensowenig effektiv ist die Extraktion von wässrigen HS-haltigen Lösungen mit organischen Lösungsmitteln wie Trioctylamin, Dodecylsulfat, Ameisensäure oder Dimethylformamid. Diese Verfahren werden kaum eingesetzt, da

- a) die Lösungsmittel zum Teil auf das HS - Molekül einwirken (Veränderung der peripheren Bausteine),
- b) durch die Wahl des Lösungsmittels (Polarität) bereits eine Selektion getroffen wird.

Eine Isolierung des nativen HS - Moleküls ist damit nicht abgesichert.

Zur Isolierung von Huminsäuren aus Wasser wird auch die Fällung durch Schwermetallsalze eingesetzt (48), die aber ebenfalls durch Behandlung mit Säure (HCl, HF) wieder abgespalten werden müssen. Hierbei ergeben sich

naturgemäß die gleichen Probleme wie oben beschrieben.

5.4. Schonende Isolierungsmethode

Die herkömmlichen Methoden zur Isolierung von Huminsäuren führen zu Veränderungen im Molekül und zu zusätzlichen Verunreinigungen. Keine der aufgezählten Methoden gewährleistet eine Extraktion des nativen Huminsäure - Moleküls. Zur Strukturaufklärung ist aber eine schonende Isolierungsmethode für HS aus dem Auslauf von biologischen Abbausystemen unbedingt erforderlich.

Die hier ausgewählte Ultrafiltrationstechnik wurde diesen Anforderungen im Prinzip gerecht (49, 50, 51, 52) und konnte erfolgreich zur Anreicherung und Reinigung der Huminsäuren eingesetzt werden. Ein Verfahren, das sich bei der Anreicherung und Reinigung von makromolekularen Substanzen, wie z.B. wasserlöslichen Polymeren schon bewährt hat (8, 53, 54). Die Ultrafiltration ist eine beschleunigte Dialyse über Membranfilter unter Druck. Anfänglich wurden UM 2 - Membranen (Ausschlußgrenze 1000 dalton) und UM 10 - Membranen (Ausschlußgrenze 10000 dalton) der Fa. Amicon verwendet. Wie sich jedoch nach einiger Zeit herausstellte, gaben diese Membranen trotz vorschriftsmäßiger Behandlung

Substanzen mit unterschiedlichem Molekulargewicht ab. Durch längeres Wässern und lange Spülzeiten mit bidestilliertem Wasser neuer Membranen konnte dieses Problem jedoch nicht gelöst werden. Selbst nach 4wöchigem Spülen einzelner Membranen konnten noch Produkte sowohl im Retentat mit einem Molekulargewicht von $\geq$ 1000 dalton als auch im Permeat von $\leq$ 1000 dalton bei NMR-Messungen nachgewiesen werden. Da diese Produkte im ^{1}H-NMR-Spektrum auch in Verschiebungsbereichen Resonanzen zeigten, wo Huminsäuren ebenfalls Resonanzen ergaben, mußte auf diese Membranen verzichtet werden.

Da alle derartigen kommerziellen aromatischen Polyamidmembranen (Terephtalsäure + Benzidin) mit Glycerin konditioniert werden, um bei der Herstellung einen gewissen Feuchtigkeitsgehalt und damit eine definierte Porengröße zu garantieren, war anzunehmen, daß diese Produkte von der Glycerinbehandlung herrühren.

Der Versuch, auf Dialyse -Schläuche (Celluloseacetat) zur Isolierung von Huminsäuren auszuweichen, brachte keine Lösung, da sich derartige Produkte ebenfalls aus dem Dialyse - Schlauch herauslösen, da auch Dialyse-Schläuche auf ähnliche Weise konditioniert werden. Da auch diese isolierten Produkte im ^{1}H-NMR-Spektrum im gleichen Verschiebungsbereich Resonanzen zeigten, war

es interessant, diese näher zu untersuchen, da es sich nicht um Glycerin selbst handeln konnte, wie ein Vergleichs-^{1}H-NMR - Spektrum zeigte.

Aus diesem Grund wurde auf eine inerte Stützmembran Glycerin aufgegeben und bei 110 °C 24 Stunden konditioniert. Anschließend wurde die Stützmembran in D_2O gelegt und das gebildete Glycerin-Kondensationsprodukt herausgelöst und davon ein ^{1}H-NMR - Spektrum aufgenommen. Dabei zeigte sich, daß dieses Produkt ein komplexes Multiplett zwischen 3,4 und 3,8 ppm mit einer aufgesetzten singulären Hauptresonanz bei 3,6 ppm ergibt und mit den Spektren der Produkte aus Dialyse -Schlauch sowie aus UM 2 - Membranen ($\prec$1000 dalton und $\succ$10000 dalton) identisch ist.

In Tabelle 12 sind die Verschiebungsbereiche sowie die Hauptresonanzen der einzelnen Produkte zusammengestellt.

	Verschiebungsbereich ppm			Hauptresonanzen ppm		
Dialyse-Schlauch	3,4	-	3,8	3,53	3,56	3,62
Membran ≤UM 2	3,5	-	3,7	3,57	3,59	3,65
Membran ≥UM 2	3,5	-	3,7	3,55	3,59	3,63
Glycerin-Kond.-Prod.	3,4	-	3,8		3,62	3,72

Tabelle 12: Verschiebungsbereiche und Hauptresonanzen der isolierten Produkte aus Dialyse-Schlauch, Membran ≤UM 2 (≤1000 dalton), Membran ≥UM 2 (≥1000 dalton) sowie Glyzerin-Kondensationsprodukt.

In Abb. 14 sind die ^{1}H-NMR-Spektren der einzelnen Produkte einander gegenüber gestellt. Wie daraus deutlich wird, sind die Spektren der einzelnen Produkte und des Glycerin-Kondensationsproduktes identisch.

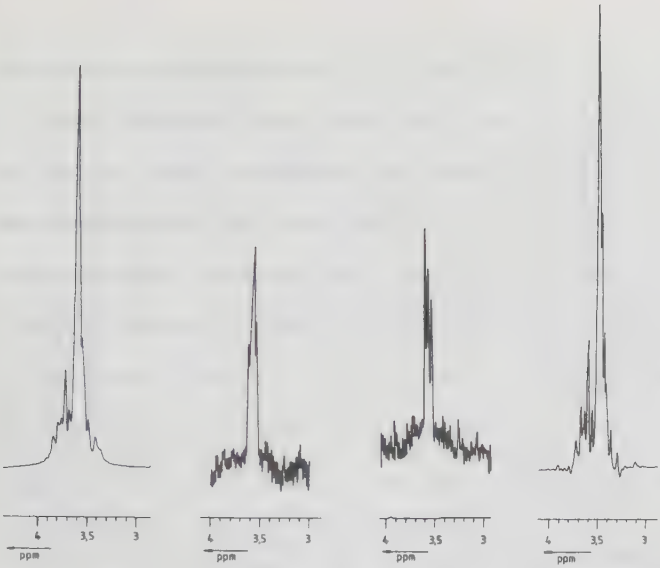


Abb 14: Ausschnitte aus den H-NMR-Spektren der isolierten Produkte aus Ultrafiltrationsmembran, Dialyse-Schlauch und Glycerin-Kondensations-Produkt.

Um die schonende Isolierungsmethode von nativen Huminsäuren beibehalten zu können, mußten deshalb neue Membranen hergestellt werden. [1] Dabei kam nur eine Polysulfonmembran in Frage, da diese bei der Herstellung nicht mit Glycerin behandelt werden muß. Zur Herstellung wurde das Polymer der Fa. Union Carbide PSF P 1700 NAT 11 bzw. PSF P

---

1) Ich danke Herrn W. Schumann für die Herstellung von Membranen verschiedener Ausschlußgrenzen.

3500 NAT 11 verwendet. Die Ausschlußgrenze wurde mit vorher über Amicon - Membranen vom Typ UM 2 bzw. UM 10 isolierten Huminsäuren getestet. Durch Variation der Polymerkonzentration sowie der Temperatur des Fällbades wurden schließlich Membranen erhalten, die die gewünschten Ausschlußgrenzen von 1000 bzw. 10 000 Dalton besaßen.

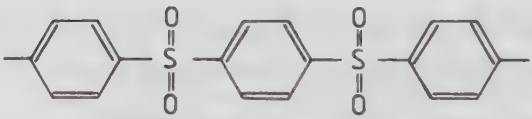


Abb. 15: Struktur des zur Herstellung von Polysulfonmembranen verwendeten Polymers.

Neben dem Vorteil, keine unerwünschten Produkte während der Ultrafiltration abzugeben, zeichneten sich diese Membranen durch hohe Durchflußraten , sowie durch eine äußerst geringe Adsorption von Huminsäuren an der Oberfläche aus. Die quantitative Bestimmung der Huminsäuren sowie die Isolierung größerer HS-Mengen zur

Strukturuntersuchung in den vorher beschriebenen Stand- und Durchlaufversuchen wurde folgendermaßen durchgeführt: die Proben wurden sofort über ein Membranfilter der Porengröße 0,2 µm sterilfiltriert, um weitere mikrobiologische Prozesse auszuschalten. Nach der Sterilfiltration wurde ein definiertes Probenvolumen sofort ultrafiltriert (Membran mit Ausschlußgrenze 1000 Dalton). Die oftmals auf 1/50 des Ausgangsvolumens aufkonzentrierten Proben wurden bis zur vollständigen Entsalzung (Nachweis auf Chlorid, Sulfat, Ammonium und Phosphat im Permeat negativ) mit ca. der 10fachen Menge bidestilliertem Wasser gespült, aus der Ultrafiltrationszelle quantitativ in ein Wägeglas überführt, lyophilisiert und gravimetrisch bestimmt.

6. Charakterisierung der isolierten Huminsäuren

Zur Charakterisierung der isolierten Huminsäuren wurden spektroskopische Methoden wie IR-,CD- und NMR-Messungen, sowie die Elementaranalyse herangezogen. Mit Hilfe von UV- bzw. Massenspektrometrie konnten bislang wenig oder keine Aussagen gewonnen werden, da HS im UV-Bereich eine lange Endabsorption ohne Absorptionsmaximum zeigen und wegen ihres geringen Dampfdrucks kein Massenspektrum liefern.

6.1. Infrarotspektroskopie

Die Proben wurden alle mit KBr verrieben und in einem IR-Spektrometer Infracord der Fa. Perkin - Elmer vermessen[1].

Die IR-Spektren von Huminsäuren, aus verschiedenen Versuchen isoliert, waren weitgehend identisch. Das heißt, daß durch verschiedene Versuchsparameter wie Sauerstoffdefizit oder Sauerstoffüberschuß bei der Genese die Grundstruktur des Huminsäuremoleküls nicht verändert wurde.

Die Spektren zeigen insgesamt eine gewisse Übereinstimmung mit den IR-Spektren von Huminsäuren aus Meeres - Sedimenten und Bodenproben (55, 56).

Außerdem weisen die Spektren die üblichen Banden bei 3350, 2900, 1640, 1420, 1240 und 1110 cm^{-1}auf. Diese Banden werden allgemein den OH-, CH-Valenz, Carbonyl, $-CH_2-O-CH_2-$ und -Si-O- Schwingungen zugeordnet (57).

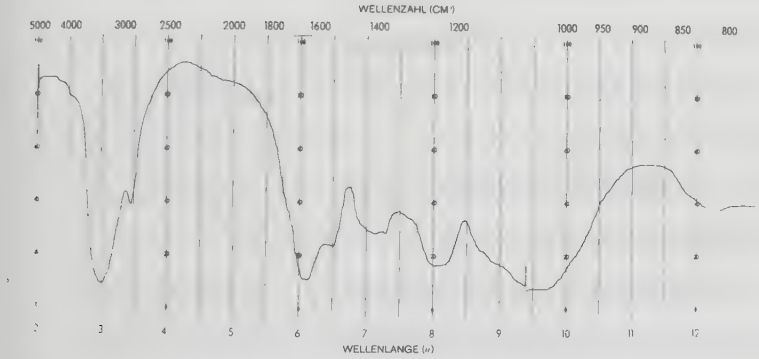
---

1) Ich danke Fräulein Förstel für die Durchführung der Messungen.

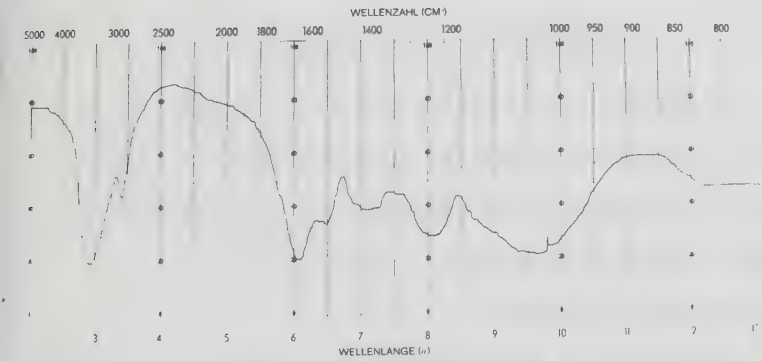
Abb. 16: a) Huminsäure aus Standversuch 4.2.

b) Huminsäure aus Durchlaufversuch 4.6.

a)



b)



6.2. NMR-spektroskopische Untersuchung [1]

Sämtliche Proben werden in D_2O gelöst und 3 Minuten mit gereinigtem Stickstoff begast. In den ^1H-NMR-Spektren wurde die HDO-Resonanz nach dem "gated decoupling-Verfahren" unterdrückt.
Es wurden bis zu 640 000 scans akkumuliert. Die resultierenden Interferogramme wurden mit verschiedenen Glättungsfaktoren multipliziert (LB = 0,3 bis 3,0 Hz) und anschließend transformiert. Die angegebenen Verschiebungswerte wurden auf das Methyl-Signal des 3- (Trimethylsilyl) -propansulfonsäure - Natriumsalzes (TMS-Propansulfonsäure Na-Salz der Fa. Merck) bezogen. Die maximale Ungenauigkeit bei dieser Kalibrierungsmethode beträgt ± 0,3 ppm.

6.2.1. ^1H-NMR-Spektrum der Huminsäuren

Die ^1H-NMR-Spektren der HS aus den einzelnen Versuchen sind nahezu identisch. Stellvertretend für alle wurde das Spektrum aus Versuch 4.3. ausgewählt. Es gliedert sich in drei Bereiche (Abb. 17):

a) Aliphatischer Bereich

Im aliphatischen Bereich liegen bei 1,25 ppm, 1,38 ppm

1) Für die Messungen und die Hilfe bei der Interpretation der Spektren danke ich Herrn Dr. K. Albert.

und 2,03 ppm die drei Hauptresonanzen. Sie sind auf einen diffusen Grundpeak aufgesetzt, der sich von 0,65 ppm bis 2,53 ppm erstreckt.

b) Hydroxymethyl-Bereich

Im Hydroxymethylbereich tritt ein komplexes Multiplett zwischen 3,2 und 4,1 ppm mit einer aufgesetzten singulären Hauptresonanz bei 3,7 ppm auf.

c) Aromatischer Bereich

Der wenig strukturierte aromatische Bereich erstreckt sich von 7,3 ppm bis 7,9 ppm und zeigt keine Besonderheiten. Er besteht aus einem schwach ausgeprägten undifferenzierten Berg, mit zwei Hauptresonanzen bei 7,3 und 7,9 ppm.

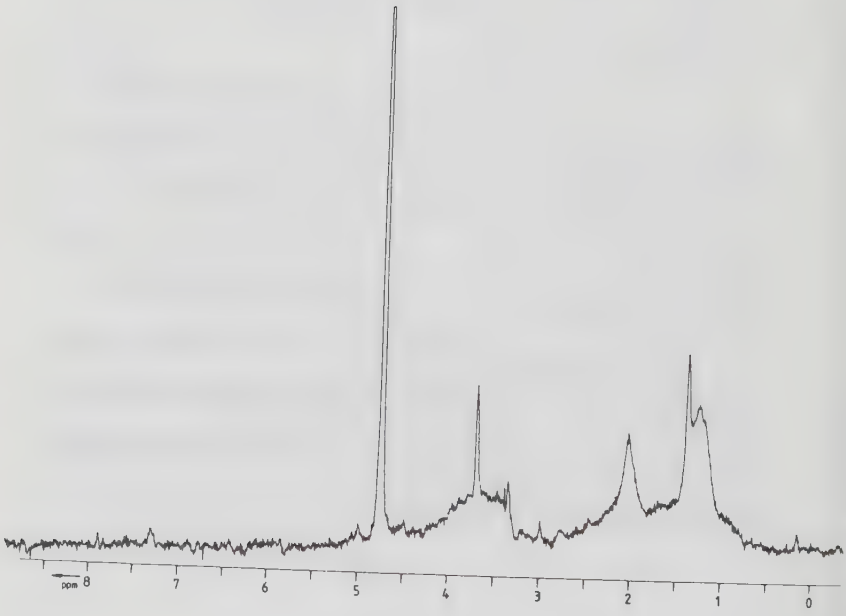


Abb. 17: ^{1}H-NMR-Spektrum der isolierten Huminsäuren

6.2.2. ^{13}C-NMR - Spektrum der Huminsäuren

Die Protonen - Resonanzen liegen nur in einem Bereich von 10 ppm. Hingegen umfassen die ^{13}C-chemischen Verschiebungen der C-Atome in organischen Verbindungen etwa 240 ppm.

Die ^{13}C-Messung zeigt also Unterschiede in der chemischen Umgebung im NMR-Spektrum wesentlich deutlicher an als die Protonenresonanzen und ist daher für die Strukturaufklärung geeigneter.

Ein Nachteil ist allerdings, daß die natürliche Konzentration an ^{13}C nur 1,1 % beträgt. Für eine Messung - auch bei mehr als 10000 scans - sind also Mindestsubstanzmengen von ca. 50 mg erforderlich.

Das ^{13}C-NMR-Spektrum der isolierten Huminsäuren ist relativ unstrukturiert (Abb. 18). Im aliphatischen Bereich liegen zwei Resonanzen bei 17 und 24 ppm. Die stärkste Resonanz des gesamten Spektrums liegt bei 72 ppm im Hydroxymethyl-Bereich. Im aromatischen Bereich tauchen nur sehr schwache, verwischte Resonanzen auf, ebenso im heteroaromatischen Bereich (100 bis 108 ppm).

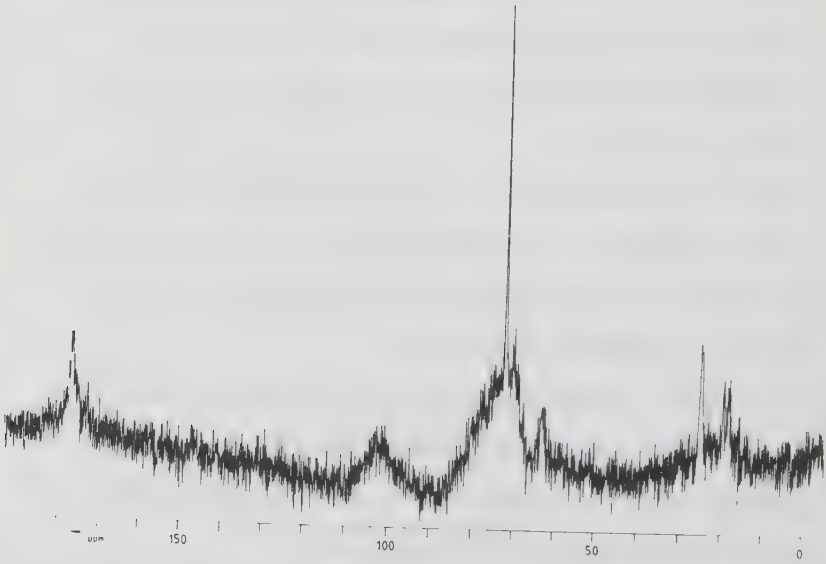


Abb. 18: ^{13}C-NMR-Spektrum der isolierten Huminsäuren

6.3. Elementaranalysen der isolierten Huminsäuren

Die Werte sind Mittelwerte aus Mehrfachbestimmungen. Die Ergebnisse zeigen, daß die Elementarzusammensetzung der unter verschiedenen Versuchsbedingungen gebildeten Huminsäuren nahezu konstant ist.

Versuchs-Nr.	C %	H %	N %	S %	O %	Aschegehalt %
4. 1.	35,25	5,30	4,68	2,07	43,34	9,36
4. 2.	36,51	5,32	4,02	1,61	41,21	11,33
4. 3.	34,59	5,57	5,52	5,41	37,74	11,17
4. 4.	34,62	5,43	6,06	3,34	40,68	9,87
4. 5.	36,46	5,46	4,85	2,78	40,53	9,92
4. 6.	36,16	5,50	4,90	3,20	39,81	10,43

Tabelle 13: Elementarzusammensetzung der Huminsäuren aus den durchgeführten Stand- und Durchlaufversuchen.

6.4. Optische Aktivität

Die optische Aktivität kann als wesentliches Kriterium für native Huminsäuren herangezogen werden.

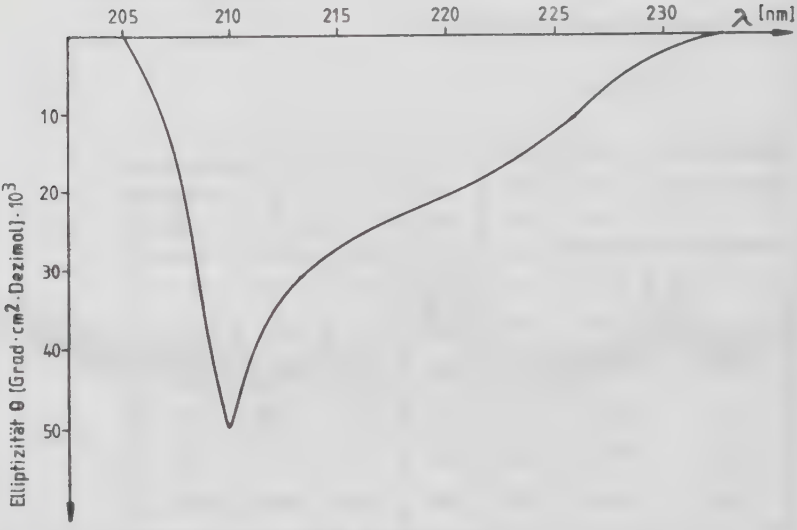


Abb. 19 : CD-Spektrum der isolierten Huminsäuren

Die isolierten Huminsäuren zeigen bei 210 nm einen ausgeprägten Cotton-Effekt. Zur Berechnung von θ wurde ein Molekulargewicht von 8 000 angenommen.

6.5. Metallkomplexierung von Huminsäuren

Da das Problem der Komplexbildung mit im Blickpunkt des wasserchemischen Interesses steht, sollte unter-

sucht werden, ob die beim aerob-thermophilen Abbau gebildeten HS ähnliche Komplexbildungseigenschaften gegenüber Schwermetallen besitzen wie Bodenhuminsäuren. Während in Flüssen und Seen der Gehalt an Huminsäuren meist sehr gering ist, daß Komplexbildung mit Metallen nur eine untergeordnete Rolle spielt, kann durch vermehrte thermophile Schlammbehandlung und dadurch stark erhöhte HS-Produktion, wie in den vorigen Versuchen gezeigt werden konnte, eine unerwünschte Metallhydroxid remobilisierung aus dem Vorflutsediment ermöglicht werden. Aus den daraus resultierenden Änderungen der chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der Metallionen können sich Auswirkungen auf natürliche aquatische Prozesse wie Pflanzenwachstum, Sedimentbildung und Mineralisierung und darüber hinaus Probleme bei Maßnahmen der Trinkwasseraufbereitung ergeben. Außerdem lassen sich die Komplexierungseigenschaften zur weiteren Charakterisierung der Abwasser-Huminsäuren benützen.

Dazu wurden Komplexierungskapazitäten für verschiedene Metalle durch Remobilisierungsversuche mit mengenmäßig definierten Hydroxiden dieser Metalle durch Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

Aus verschiedenen Metallsalzlösungen wurden definierte

Mengen entnommen, der pH-Wert mit NaOH auf pH 8,5 eingestellt, so daß die entsprechenden Hydroxide gefällt vorlagen. Nach dem Auffüllen auf genau 200 ml und exakter pH-Einstellung auf 8,5 wurde eine Probe entnommen und durch ein Filter mit der Porengröße 0,2 µm mit 2,5 bar N_2 gedrückt. Das Filtrat wurde dann jeweils auf die verschiedenen gelösten Metalle mit AAS untersucht [1]. Nach Zusatz einer HS-Menge von 200 mg und ggf. neuer Einstellung des pH-Wertes auf 8,5 wurde in einer Zeitreihe die Zunahme der Metallionenkonzentration im Filtrat bestimmt. Diese Zeitreihe wurde für verschiedene Metalle durchgeführt.

In Tabelle 14 sind die Meßwerte zusammengestellt.

Wie aus den Meßwerten zu ersehen ist, werden von den untersuchten Metallen 2wertige eindeutig vor 3wertigen bevorzugt komplexiert. Bei den 2wertigen Metallionen werden wiederum Cd und Hg wesentlich stärker komplexiert als z.B. Cu, Pb und Zn.

---

1) Ich danke Herrn Dr. K. Weingärtner für die AAS-Messungen.

		Zeit [min]								
		0	10	20	30	60	120	180	240	300
vorgelegte Menge Metall	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Cu^{2+}	100	0,2	5,3	8,3	9,2	8,8	9,5	9,8	9,8	10,0
Cr^{3+}	80	0,1	0,3	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5
Pb^{2+}	350	0,4	6,9	8,0	8,3	8,6	8,4	8,5	9,1	9,1
Hg^{2+}	350	13,7	169	173	178	148	140	120	65	55
Cd^{2+}	375	5,5	87,7	91,6	92,9	93,8	94,2	95,5	97,4	97,4
Zn^{2+}	150	1,1	7,7	9,3	9,8	10	9,9	9,5	10,1	9,9
Fe^{3+}	100	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

Tabelle 14: Remobilisierung von verschiedenen Schwermetallen durch Huminsäuren.

In einer neuen Versuchsreihe wurde überprüft, ob diese bevorzugte Komplexierung von Huminsäuren auch in einer Mischung aller vorher untersuchter Metalle erhalten bleibt oder ob durch Konkurrenzreaktion dieser Effekt verloren geht.

In Tabelle 15 sind diese Meßwerte zusammengefaßt.

Die Meßwerte zeigen, daß bei gleichzeitigem Vorliegen von verschiedenen Schwermetallionen Cu, Hg und Cd stärker remobilisiert werden als Cr, Zn, Fe und Pb. Es ist weiterhin ersichtlich, daß die Remobilisierung von Hg und Cd im Gemisch mit anderen Schwermetallen bei weitem nicht mehr so bevorzugt ist, wie wenn sie einzeln von Huminsäuren remobilisiert werden.

		Zeit [min]									
		0	10	20	30	45	60	120	180	240	300
vorgelegte Menge Metall	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Cu^{2+}	25	0,1	1,2	1,6	-	2,2	2,6	3,6	-	4,6	4,4
Cr^{3+}	20	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0
Pb^{2+}	70	0,4	0,5	0,5		0,7	0,8	1,0	1,2	1,3	1,3
Hg^{2+}	70	1,6	4,8	4,9	5,1	-	5,0	5,0	5,1	5,2	5,3
Cd^{2+}	75	2,4	9,8	9,9	10,5	-	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Zn^{2+}	30	0,1	0,5	0,5	-	1,0	1,1	0,9	0,9	0,9	0,9
Fe^{3+}	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 15: Remobilisierung von verschiedenen Schwermetallen in Mischung durch Huminsäuren.

In Abb. 20 ist die Remobilisierung der untersuchten Metalle einzeln und in Mischung einander gegenübergestellt. Dabei wurde die remobilisierte Menge Metall nach 300 Minuten gewählt, da aus den Meßwerten hervorgeht, daß sich bei dieser Reaktionszeit ein Gleichgewicht eingestellt hat.

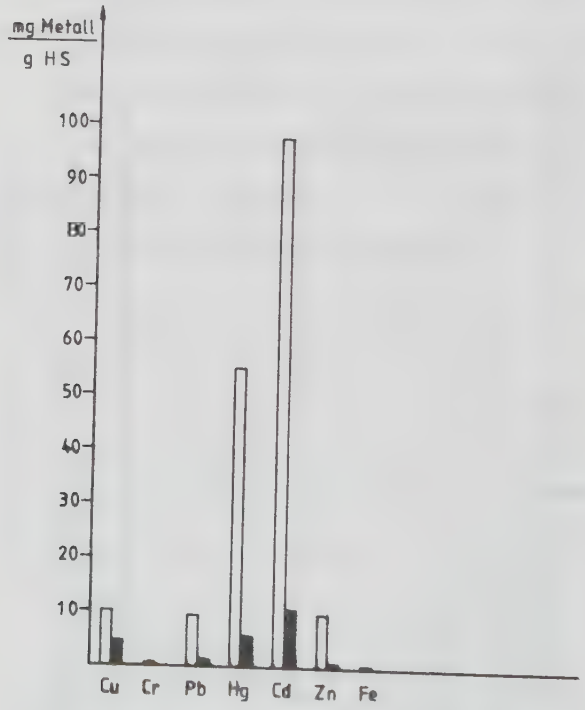


Abb. 20: Remobilisierung von Schwermetallhydroxiden durch Huminsäuren einzeln □ und in Mischung ■

7. Untersuchungen zur Strukturaufklärung

Die Analyse der Huminsäuren mit herkömmlichen spektroskopischen Methoden läßt keine differenzierte Aussage über die chemische Struktur zu. Die Komplexität des Moleküls erschwert eine exakte Aussage über die einzelnen Bausteine. Allgemeine, wenig detaillierte Angaben sind durch die UV-, IR-, und NMR-Spektroskopie möglich. Eine Aufklärung der Strukturbausteine ist mit diesen Methoden jedoch bisher nicht gelungen.
Um identifizierbare Bruchstücke zu erhalten, müssen Abbaumethoden eingesetzt werden, die weder zu mild (keine Fraktionierung) noch zu drastisch (Abbau bis zum Kohlendioxid, Wasser, zur Oxalsäure und Essigsäure) sind.

7.1. Molekulargewichte

Um eine Aussage darüber zu erhalten, in welchem Molekulargewichtsbereich sich die beim aerob-thermophilen Abbau von Klärschlamm gebildeten HS bewegen, wurde eine genaue Menge HS eingewogen, in bidestilliertem Wasser gelöst und über eine Ultrafiltrationsmembran mit einer Ausschlußgrenze von 1000 dalton bei 2,3 bar N_2-Druck filtriert, bis im Filtrat die Extinktion bei 270 nm kleiner 0,02 war. Das Filtrat wie auch das Retentat wurden am Rotationsverdampfer bei 30 °C eingeengt,

anschließend gefriergetrocknet und ausgewogen. Es zeigte sich, daß 93 % der gebildeten HS ein Molekulargewicht zwischen 1000 und 10 000 Dalton und nur 5,9 % ein Molekulargewicht über 10 000 besitzen.

7.2. Versuche zur Hydrierung von HS

Nach (14) werden Strukturelemente der HS wie Phenoxazin, Indolin und substituierte Aromaten durch Doppelbindungen so verknüpft, daß Mesomeriemöglichkeiten gegeben sind, wodurch auch die braune Farbe erklärbar wird.
Aus diesem Grund wurde versucht, derartige Doppelbindungen zu hydrieren.

7.2.1. Hydrierung von HS mit Palladium/Aktivkohle bei Raumtemperatur

Es wurden 500 mg HS in 150 ml H_2O gelöst, der pH-Wert auf 7,0 eingestellt und ca. 50 mg Palladium/Aktivkohle zugesetzt und bei Raumtemperatur in einer Gasbürette hydriert. Der Wasserstoffverbrauch wurde täglich registriert. Nach einer Reaktionszeit von 5 Tagen wurde kein Wasserstoffverbrauch festgestellt und der Versuch abgebrochen. Ein Vergleich der Elementarzusammensetzung vor und nach der Hydrierung ergab keine

Veränderung.

7.2.2. Hydrierung von HS mit Palladium/Aktivkohle bei 100 °C

Hierfür wurden ebenfalls 500 mg HS zur Hydrierung eingesetzt. Die Katalysatormenge wurde wie im vorigen Versuch konstant gehalten. Die Hydrierung erfolgte im Autoklaven bei 100 bar und 100 °C. Nach einer Reaktionszeit von 48 Std. wurde der Katalysator abgetrennt, die HS-Lösung eingeengt und lyophylisiert. Die Überprüfung der Elementarzusammensetzung ergab auch hier keinerlei Veränderung.

7.2.3. Hydrierung von HS mit Raney-Nickel

Um eine Vergiftung des Palladium-Katalysators durch vorhandene Schwefelverbindungen auszuschließen, wurde nun die Hydrierung unter gleichen Bedingungen wie im Versuch 7.2.2., jedoch mit frisch hergestelltem Raney-Nickel als Katalysator durchgeführt. Bei der Elementarzusammensetzung zeigte sich auch hier keinerlei Veränderung.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 22) können aber hingegen Doppelbindungen detektiert werden, deren Lage im Molekül im Augenblick nicht festzulegen ist.

7.3. Reinigung von HS durch HCl in Tetrahydrofuran

Um eventuell adsorbierte organische Verunreinigungen abzuspalten, ohne das HS-Molkül anzugreifen und somit sehr reine HS zu erhalten, wurden 300 mg HS in THF suspendiert, mit 1 ml verdünnter HCl versetzt und bei Zimmertemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von 6 Std. wurde filtriert und das Lösungsmittel vorsichtig verdampft. Zurück blieb eine geringe Menge hellgelbes Öl, von dem ein ^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen wurde (Abb.21).

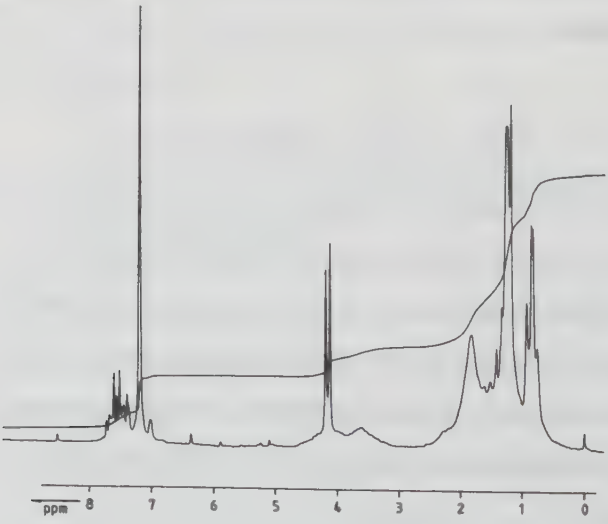


Abb. 21: ^{1}H-NMR-Spektrum der abgespaltenen Substanz

Das ^{1}H-NMR-Spektrum ist mit dem der Vergleichsverbindung Phthalsäuredibutylester identisch, die α-CH_2-Gruppe absorbiert bei 4,20 ppm; die endständige CH_3-Gruppe liegt bei 0,87 ppm. Die restlichen CH_2-Gruppen absorbieren bei 1,3 ppm. Aus dem Integrationsverhältnis ergibt sich eine ungefähre Kettenlänge von 5 CH_2-Einheiten.

Die ortho Substitution des Aromaten ergibt sich durch Vergleich mit dem ^{1}H-NMR-Spektrum von Phthalsäurediäthylester (AA'-BB'-System) Die Spektren beider Verbindungen zeigen im aromatischen Bereich ein identisches Kopplungsmuster.

Von der auf diese Weise gereinigten Huminsäure wurde ebenfalls ein ^{1}H-NMR-Spektrum angefertigt. Es zeigte sich kein Unterschied zur Roh-Huminsäure (vgl. Abb. 17 und Abb. 18).

7.4. Reinigung von HS durch Soxhlet-Extraktion

Um zu überprüfen, ob die durch HCl/THF erhaltene Phthalsäureester nur absorbiert waren oder ob auch unter diesen schonenden Bedingungen bereits eine partielle Hydrolyse eingesetzt hatte, wurden 1,5 g Roh-Huminsäure im Soxhlet 24 Std. mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels verblieb ebenfalls wie-

der ein gelbliches Öl in sehr geringer Menge. Durch NMR-Spektroskopie bzw. Massenspektrometrie konnten auch in diesem Fall Phtalsäureestergemische identifiziert werden.

Das bedeutet also: verschiedene Phtalsäureester sind an den Huminsäuren adsorbiert und werden durch die Isolierung mittels Ultrafiltration mitisoliert.

Aus diesem Grund wurde eine größere Menge Huminsäure zur Reinigung von adsorbierten Phtalsäureestern im Soxhlet 24 Std. mit Dichlormethan extrahiert, das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen und diese gereinigten Huminsäuren zur weiteren Untersuchung zur Strukturaufklärung verwendet.

7.5. Diskussion der ^{1}H- und ^{13}C - NMR - Spektren der gereinigten Huminsäuren

In Abb. 22 und 23 ist das ^{1}H bzw. ^{13}C-NMR-Spektrum der gereinigten Huminsäuren dargestellt.

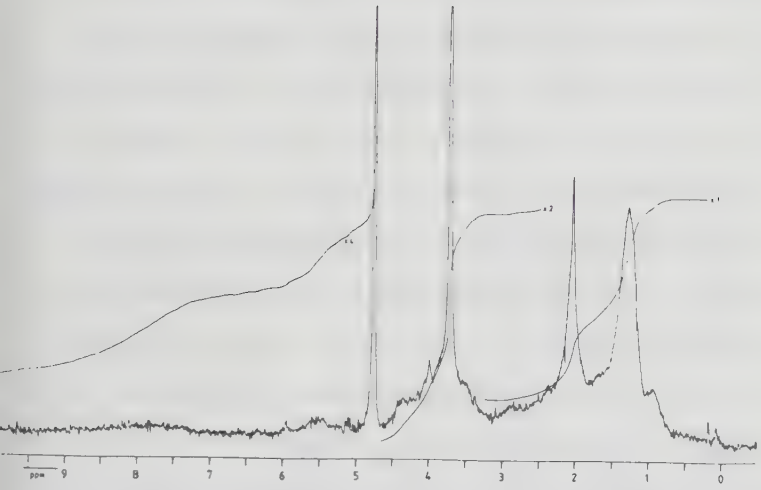


Abb. 22: ^{1}H-NMR-Spektrum der gereinigten Huminsäuren

Die Resonanz im ^{1}H-NMR-Spektrum bei 0,9 ppm kann endständigen CH_3-Gruppen an einer CH_2-Kette bzw. an einer Isopropyl-Gruppe zugeordnet werden. Weiterhin deutet das relativ unstrukturierte Signal bei 1,27 ppm auf das Vorhandensein langkettiger Alkylgruppen

($-(CH_2)n-$) hin. Darüber hinaus können jedoch auch CH_3-Signale in diesem Bereich liegen, die sich in Nachbarschaft zu einer $-C-\overset{C}{\underset{|}{C}}-$ Verzweigung befinden, die einen Sauerstoff als Substituent trägt.

Die Resonanz bei 2,0 ppm rührt entweder von CH_3-Gruppen, die direkt an Aromaten bzw. Heteroaromaten sitzen oder sich in Nachbarschaft zu einer Carbonyl-Funktion befinden; ebenso absorbieren in diesem Bereich die Signale von α- und β- ständigen CH_2-Gruppen in Estern. Außerdem absorbieren im selben Bereich CH_2-Gruppen in direkter Nachbarschaft zu C-C-Doppelbindungen (65), sowie funktionalisierte CH_2-Gruppen (CH_2-Gruppen in Nachbarschaft zu $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH$).

Die gefundenen Resonanzen im aliphatischen Bereich sind charakteristisch für Huminsäuren im Gegensatz zu Lignin, wo derartige Signale nicht gefunden werden.

Im Verschiebungsbereich von 3,4 - 4,2 ppm tritt ein unstrukturierter Resonanzberg auf, auf den eine singuläre Resonanz bei 3,6 - 3,7 ppm aufgesetzt ist. Signale dieser Art in diesem Bereich werden von gemischten Glycerinethern bzw. -estern hervorgerufen (vgl. Abb. 14 Glycerinkondensationsprodukt). Die aufgesetzte singuläre Resonanz kann also entweder einer $-CH_2-O-$ oder $\overset{|}{\underset{|}{C}}H-O-$ Gruppierung zugeordnet werden.

Die Klärung dieser Frage erfolgte mit Hilfe der ^{13}C NMR-Spektroskopie (Abb. 25 und 26).

Aromatische Resonanzen sind nur sehr schwach ausgeprägt und unstrukturiert. Bei 5,5 ppm können Signale, die auf Doppelbindung hindeuten, detektiert werden.

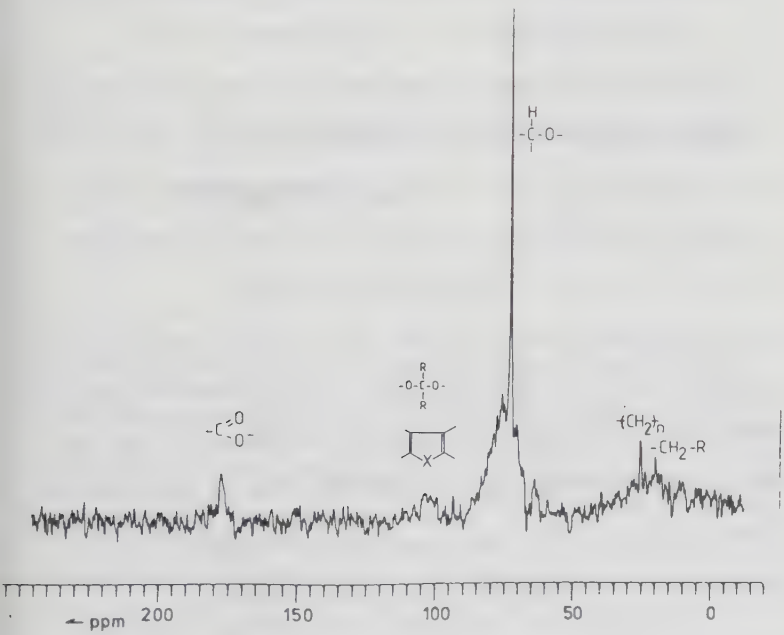


Abb. 23: ^{13}C-NMR-Spektrum der gereinigten Huminsäure

Obige Abbildung zeigt das ^{13}C-NMR-Spektrum der gereinigten Huminsäure.

Im Gegensatz zum ^{1}H-NMR-Spektrum kann hierbei nicht so klar zwischen langkettigen CH_2-Gruppen und funktionalisierten CH_2-Gruppen unterschieden werden.
Außer den Substituenteneffekten bewirken sterische Effekte zusätzliche Verschiebungen.
Die Resonanz bei 22 ppm rührt von endständigen CH_3- bzw. von funktionalisierten CH_2-Gruppen her (in $-CH_2-CH=CH-$ Gruppierungen erscheint die CH_2-Gruppe hochfeldverschoben bei 20 - 22 ppm).
Die Signale im Bereich von 25 - 30 ppm könnten langkettigen CH_2-Gruppen zugeordnet werden (≙ dem Signal bei 1,27 ppm im ^{1}H-NMR-Spektrum).
Im aliphatischen Bereich zeigt sich ein dominanter Bereich zwischen 60 - 85 ppm, der Polyethern zugeschrieben werden kann ($-O-\overset{|}{\underset{|}{C}}-R$). Die Signale zwischen 60 - 64 ppm deuten auf cyclische Ether hin (66). Die Resonanzen im Bereich von 68 - 85 ppm müssen Glycerinethern unterschiedlicher Substitution zugeordnet werden.

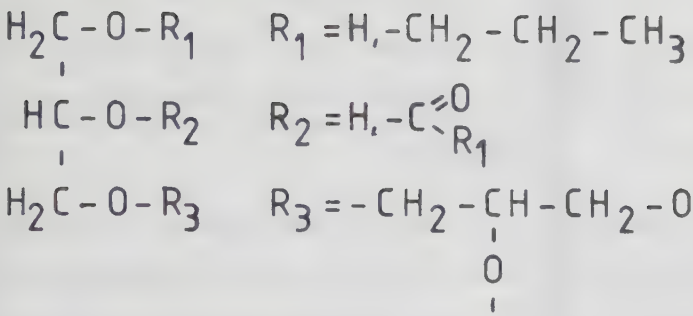


Abb. 24 : Glycerinether unterschiedlicher Substitution.

Im Bereich zwischen 95 - 110 ppm liegt wieder ein diffuser Resonanzberg, der von O-CHR-O-Funktionen oder von isolierten Doppelbindungen bzw. Heteroaromaten herrühren dürfte.

Während die Doppelbindungen im ^{1}H-NMR-Spektrum bei 5 - 5,5 ppm absorbieren, erstreckt sich der entsprechende Bereich im ^{13}C-NMR-Spektrum von 105 - 145 ppm und überlappt größtenteils mit Signalen aus aromatischen Strukturelementen (67). Dadurch ist aus dem vorhandenen Spektrum eine Differenzierung nur schwer möglich.

Die gefundenen aromatischen Resonanzen im Bereich von

120 -140 ppm sind nicht sehr ausgeprägt.
Deutlicher als im ^{1}H-NMR-Spektrum treten Carbonylresonanzen auf. So erscheint bei 176 ppm ein Signal, das Carbonsäuren bzw. Carbonsäureestern zugerechnet werden muß.

Die singuläre Resonanz auf dem unstrukturierten Signalberg tritt sowohl im ^{1}H- als auch im ^{13}C-NMR-Spektrum auf (im ^{1}H-NMR-Spektrum bei 3,6 ppm und im ^{13}C-NMR-Spektrum bei 72 ppm) und wird durch Polyether hervorgerufen. Aufgrund der Signalintensität beider Spektrensorten wird dieses Signal von einer bestimmten Molekülgruppierung hervorgerufen. Die Unterscheidung zwischen $-O-\underset{|}{CH}-$ bzw. $-O-CH_2-$ gelingt aufgrund der Multiplizität im Off-Resonance-Spektrum. Hier liegt das im breitbandentkoppelten Spektrum bei 72 ppm absorbierende Signal als Triplett vor. Die Kopplungskonstante entspricht genau derjenigen von Polyoxyethylen und beträgt 143 Hz. Somit dürfte es sich bei der singulären Resonanz um eine $-O-CH_2-$ Gruppierung handeln (Abb. 25 und 26).

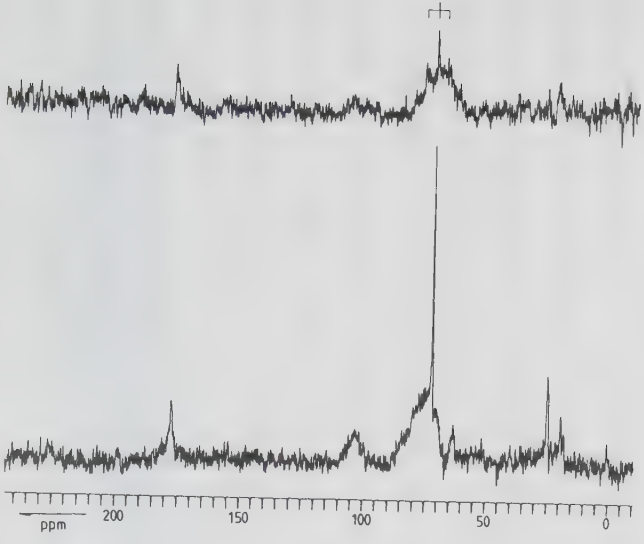


Abb. 25: ^{13}C-NMR-Spektrum von HS
unten: ^{1}H-breitbandentkoppelt
oben: ^{1}H-Off-Resonance-entkoppelt

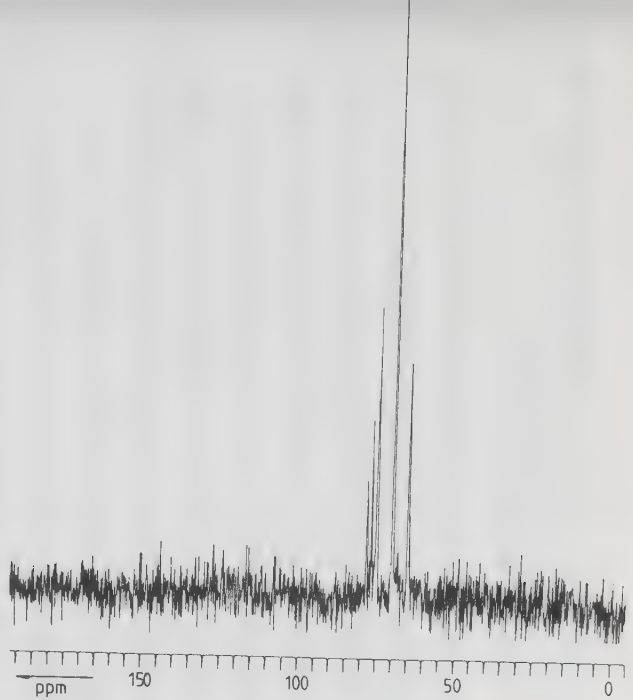


Abb.26: ^{13}C-NMR-Spektrum von POE-3000
^{1}H-Off-Resonance-entkoppelt

7.6. Diskussion der ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektren der gereinigten Huminsäuren

Die Untersuchungen der gelösten HS werden durch das ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum bestätigt.

Die ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektroskopie ist für die Bestimmung fester Polymerer von sehr großer Bedeutung geworden (68). Außerdem hat diese Methode in den letzten Jahren durch die Verwendung neuer experimenteller Techniken hochaufgelöste Spektren bei der Untersuchung fossiler Brennstoffe geliefert (69).

^{13}C-Festkörper-Linien werden hauptsächlich durch ^{1}H-^{13}C-Dipol-Wechselwirkung und Anisotropie der chemischen Verschiebung (^{13}C) verbreitert, so daß Messungen an Festkörpern mit fast starren Gittern wie z.B. Kohle, die zu extremen Linienbreiten führen, bisher scheiterten. Der erstgenannte Einfluß kann leicht durch Einstrahlung der Protonenfrequenz während des ^{13}C-Abfalls beseitigt werden, während der letztere durch Rotation der Probe um eine Achse, die zur Richtung des äußeren Magnetfeldes um den "magischen Winkel" gedreht ist, ausgeschaltet werden kann. Die unter diesen Voraussetzungen erzielten Spektren sind hoch aufgelöst und so ist es möglich, Moleküle im festen Zustand in ähnlicher Weise zu untersuchen, wie es in Lösung schon

länger routinemäßig durchgeführt wird.

Auf nähere Einzelheiten dieser Meßmethodik kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Im Rahmen des Vergleichs von Huminsäuren aus verschiedenen Quellen, worunter sich auch wasserunlösliche befanden, wurden zur Analytik ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektren aufgenommen [1]. Zur Überprüfung, ob auch für den Fall der HS die Verschiebungen im ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum herangezogen werden können, wurde von der gereinigten HS-Probe sowohl ein ^{13}C-Spektrum in D_2O-Lösung (Abb.23) als auch im festen Zustand aufgenommen (Abb.27).

---

1) Ich danke den Herren Dr. Müller und Dr. Förster von Fa. Bruker Analytische Meßtechnik GmbH, Karlsruhe, für die Aufnahme der Spektren

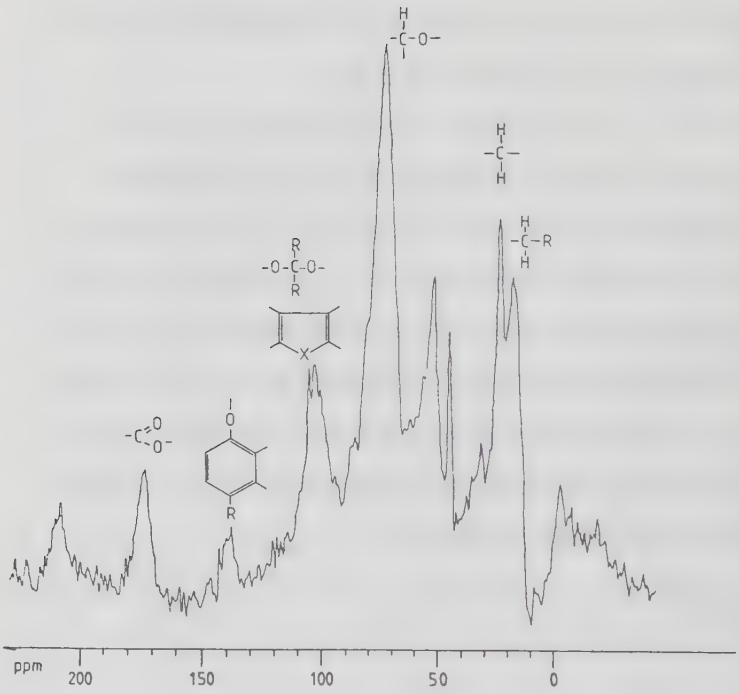


Abb. 27: ^{13}C-PE-MAS-Spektrum der gereingten Huminsäure

Wie daraus deutlich zu ersehen ist, stimmen die Verschiebungswerte mit einem Fehler von ± 2 ppm sehr genau überein.

Die unterschiedlichen Intensitäten sind auf die unterschiedlichen Relaxationsbeiträge zurückzuführen.

In Tab. 16 sind die Resonanzen der gelösten Humin-

säure aus Abb. 23 sowie derjenigen im festen Zustand vermessenen (Abb. 27) einander gegenüber gestellt.

	Verschiebungswerte des ^{13}C-NMR-Spektrums der gelösten Huminsäure ppm	Verschiebungswerte des ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrums der Huminsäure ppm
Aliphatischer Bereich	20,3 25,8	20,2 25,3 46,7 53,9
Hydroxymethyl-Bereich	73,2	73,9
Arom. und heteroarom. Bereich	104,5 105,6	104,0 106,5
Carbonyl-Bereich	177,7	175,8

Tabelle 16: Vergleich der Verschiebung bei ^{13}C-NMR-Messungen an Huminsäuren in Lösung und als Festkörper.

7.7. Huminsäuren aus Torf

Da Huminsäuren wichtige Bestandteile in Torf und Braunkohle (in Braunkohle ca. 40 %) darstellen, hat die Frage interessiert, ob die Strukturmerkmale der Abwasser-Huminsäuren auch in Torf- oder Braunkohle-Huminsäuren nachzuweisen sind.

Zu diesem Zweck wurden Proben aus dem Torfstich der Gemeinde Aham/Kircheiselfing, Kreis Wasserburg/Inn [1] gezogen, da an diesem Standort Kontaminationen weitgehend auszuschließen waren. Der Gehalt an gelösten Ionen wie Calcium, Magnesium, Eisen, Mangan, Chlorid, Sulfat, Nitrat und Ammonium war äußerst gering.
Die Isolierung der Huminsäuren erfolgt aus einer 20 l - Probe wie unter III.3. beschrieben.
Das IR-Spektrum entspricht sehr genau dem der aus Abwasser isolierten Huminsäuren.

---

1) Ich danke Herrn Josef Aringer, Landwirt, für die Möglichkeit zur Probenahme.

Auch die Elementarzusammensetzung der Torf-Huminsäuren liegt in dem Bereich der Abwasser-Huminsäuren, nur der Stickstoffgehalt liegt niedriger. In Abb.28 ist das ^{1}H-NMR-Spektrum der Torf-Huminsäure abgebildet.

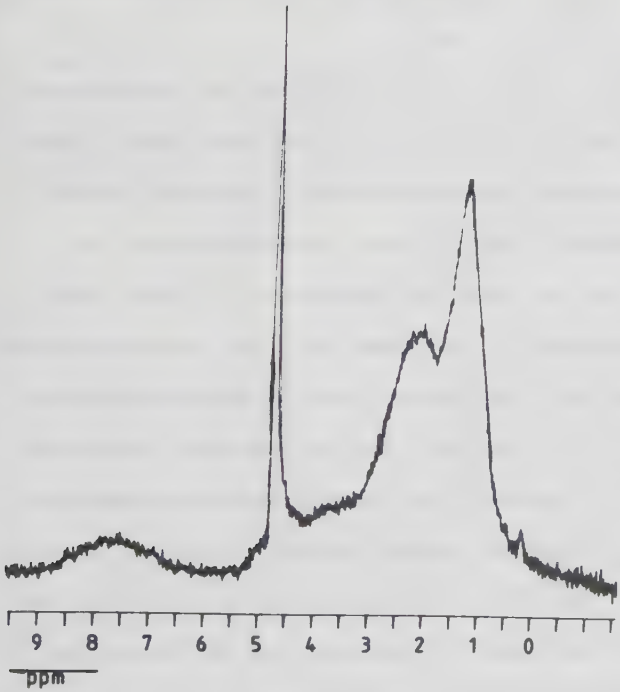


Abb. 28: ^{1}H-NMR-Spektrum der Torf-Huminsäure

Das ^{1}H-NMR-Spektrum zeigt im aliphatischen Bereich 2 Hauptresonanzen bei 1,2 und 2,3 ppm. Der Polyether-

Bereich erstreckt sich von 3,0 - 4,3 ppm. Die undifferenzierten Resonanzen sind nur als schwache Schulter neben den aliphatischen Hauptresonanzen erkennbar. Die Signale im aromatischen Bereich zwischen 6,5 und 8,5 ppm erscheinen völlig unstrukturiert. Durch Integration ergibt sich ein Verhältnis von aliphatischen zu aromatischen Protonen wie 10 : 1.

Im Vergleich zum ^{1}H-NMR-Spektrum der gereinigten Abwasser-Huminsäure (Abb. 22) ist eine starke Ähnlichkeit zwischen den aliphatischen Resonanzen erkennbar. In beiden Fällen treten 2 Hauptresonanzen um 1,2 und 2,0 ppm auf, die auf langkettige (1,2 ppm) bzw. funktionalisierte CH_2-Gruppen (2,0 ppm) zurückzuführen sind. Das Verhältnis dieser beiden Peaks ergibt in der löslichen Torf-Huminsäure den gleichen Wert wie in der gereinigten Abwasser-Huminsäure, wobei die langkettigen CH_2 - Gruppen dominieren (CH_2 : CH_2 funkt. = 1,25 : 1). Im Gegensatz zum ^{1}H-NMR-Spektrum der gereinigten Abwasser-Huminsäure sind die Resonanzen im Polyetherbereich nur sehr schwach erkennbar, insbesondere fehlt die aufgesetzte singuläre Resonanz bei 3,6 ppm. Wie aus Abb. 28 zu ersehen ist, ist der aromatische Anteil größer als bei der entsprechenden Abwasser-Huminsäure.

Aufgrund der wesentlich schlechteren Löslichkeit und der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge konnte ein ^{13}C-NMR-Spektrum in vertretbarer Meßzeit nicht erhalten werden.

7.8. ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum einer Torfprobe

Von einer festen Torfprobe aus der gleichen Quelle konnte jedoch ein ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum aufgenommen werden (Abb. 29).

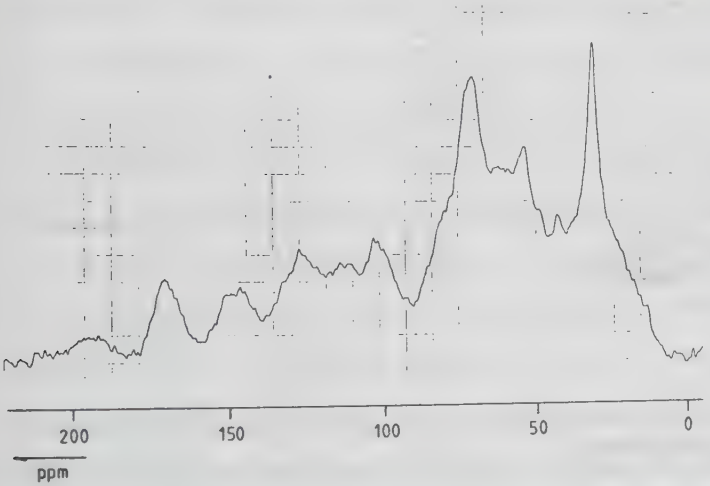


Abb. 29: ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum einer Torfprobe

Die aus diesem NMR-Spektrum entnommenen Verschiebungen sind in Tabelle 17 mit denjenigen des ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrums der löslichen Huminsäuren verglichen. Trotz der Schwierigkeiten beim Vergleich der relativen Signalintensitäten soll hier ein erster Vergleich der beiden Proben versucht werden.

	Verschiebungswerte des ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrums der Huminsäure ppm	Verschiebungswerte des ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrums des Torfs ppm
Aliphatischer Bereich	20,2 25,3 46,7 53,9	31,8 54,5
Hydroxymethyl-Bereich	73,9	71,9
Aromatischer und heteroarom. Bereich	104,0 106,5 138,5	103,5 114,5 127,5 148,5
Carbonyl-Bereich	175,8	171,5

Tabelle 17: Vergleich der Verschiebung bei ^{13}C-Festkörper-NMR-Messungen an Huminsäuren und Torf.

In beiden Verbindungen (Huminsäure und Torf) treten die aus den hochaufgelösten NMR-Spektren bekannten Verschiebungen auf. Als wesentlichste Aussage dieses Vergleichs kann festgestellt werden, daß auch in der festen Torfprobe Resonanzen im Polyetherbereich auftreten (71,9 ppm).

Im Gegensatz zu den wasserlöslichen Torfbestandteilen (vgl. Abb.28) ist im ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum des Torfs der Polyetherbereich wesentlich stärker ausgeprägt als die entsprechenden Resonanzen im ^{1}H-NMR-Spektrum. Im aliphatischen Bereich liegt die Hauptresonanz bei 31 ppm und ist gegen derjenigen in der Torf-Huminsäure tieffeldverschoben. Dies könnte auf einen verstärkten Anteil von langkettigen CH_2-Gruppen zurückzuführen sein.

Der aromatische Bereich des Torf-Spektrums zeigt eine überraschend gute Separierung. Die auftretenden drei Signalgruppen bei 114, 128 und 150 ppm lassen sich beispielsweise durch phenolische Strukturelemente der allgemeinen Form R- -O-R' gut erklären (72). Das Strukturelement wird ebenfalls nach der Hydrolyse nativer Huminsäuren mit 6 n HCl in den Spaltprodukten gefunden (8). Während nach dem Torf-Spektrum starke Resonanzen von ^{13}C-Atomen erkennbar sind, die in heterocyclischen Systemen vorliegen, treten derartige

Resonanzen im ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum der wasserlöslichen Huminsäure nur wesentlich schwächer auf.

Interessant ist die völlige Übereinstimmung der beiden Spektren im Carbonylbereich; Carbonsäuren und Carbonsäurereste scheinen also auch im Torf in gleichen Anteilen vorhanden zu sein.

7.9. ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum einer Huminsäure aus Braunkohle

Genetisch wesentlich älter sind Huminsäuren aus Braunkohle gegenüber denjenigen aus Torf. Dazu wurde handelsübliche Braunkohle fein gemahlen und mit 0,1 n NaOH 24 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Nach der Neutralisation auf pH 7 und Druckfiltration über Membranfilter wurde die Lösung über eine Membran mit der Ausschlußgrenze von 1000 dalton bis zur Chloridfreiheit bei 2,3 bar N_2 mit bidestilliertem Wasser ultrafiltriert, eingeengt und lyophilisiert. Von der erhaltenen Huminsäure wurde ebenfalls ein ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum aufgenommen.

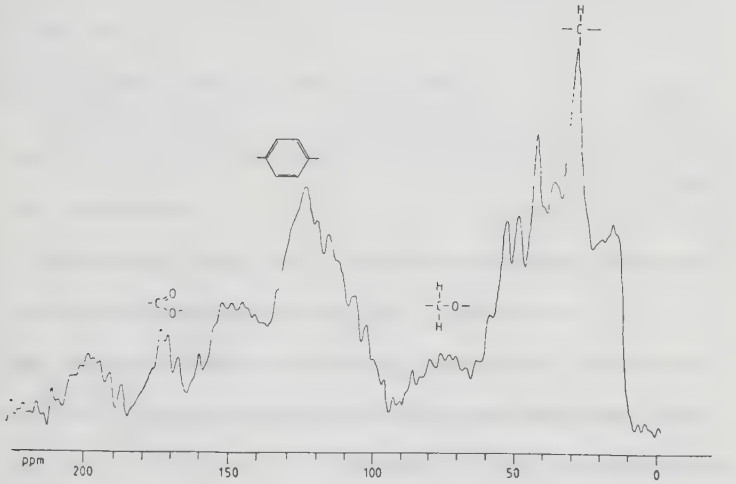


Abb. 30: ^{13}C-Festkörper-NMR-Spektrum einer HS aus Braunkohle

Im PE-MAS* - ^{13}C-Spektrum dieser Huminsäure aus Braunkohle erscheint im Gegensatz zum Torfspektrum (vgl. Abb. 29) der aliphatische Bereich wesentlich stärker ausgeprägt. Der aromatische Bereich zeigt eine geringere Differenzierung als im Torfspektrum, die Hauptresonanz liegt bei 125 ppm und läßt auf polykondensierte Aromaten schließen, während im Torf die ortho-Sub-

stitution des Aromaten an Hand der charakteristischen Hochfeldverschiebung (Signale bei 100 und 115 ppm) nachzuweisen ist.
Im Polyetherbereich zwischen 60 - 9o ppm sind noch Resonanzen erkennbar, jedoch ist die relative Intensität im Vergleich zum Torf-Spektrum sehr stark zurückgegangen. Ebenso sind auch Resonanzen im Carbonyl-Bereich zu detektieren.

Als abschließende Feststellung kann gesagt werden:
- bei der Alterung von Huminsäuren scheinen die Polyether bis zum Torf erhalten zu bleiben, während sie in Braunkohle-Huminsäure stark zurückgehen
- aromatische Anteile nehmen zu
- endständige CH_3-Gruppen nehmen ab

Eine zusätzliche Erschwernis tritt bei der Interpretation von Spektren derartiger Proben jedoch auf, da in der festen Torf-Probe neben Huminsäuren auch noch abgestorbene pflanzliche Anteile, also Lignine vorliegen. Dies erschwert die Interpretation der Spektren und zeigt sich an den Methoxy-Gruppen bei 55 -60 ppm (vgl. Abb. 29).

---

*) PE-MAS: Proton enhanced magic angle spinning

7.10. Oxidation von HS mit H_2O_2 in gepufferter Lösung

Der oxidative Abbau ist aufgrund des hohen Sauerstoff-Gehaltes der HS gegenüber dem reduktiven Abbau begünstigt.

Bei der alkalischen Nitrobenzol-Oxidation (58, 59) und bei der Cu-NaOH-Oxidation (60, 61) ergaben sich jedoch nur unbedeutende Hinweise auf das Grundgerüst der HS, da insgesamt nur ca. 1 % verschiedene Benzoesäuren und Phenolderivate erhalten werden konnten.

Die Oxidation mit alkalischer $KMnO_4$-Lösung stellt demgegenüber eine sehr drastische Methode dar, die eine Reihe von Substanzen liefert (62). Die genaue Herkunft der Substanzen läßt sich jedoch schwer bestimmen, denn es ist nicht bekannt, auf welche Art abgespaltene Bruchstücke mit dem Restmolekül weiterreagieren.

Bei neueren Untersuchungen konnten nur Zersetzungsprodukte, aber keine Strukturbausteine nachgewiesen werden (63).

Der oxidative Abbau des HS-Moleküls mit H_2O_2 war ebensowenig erfolgreich (64). Hierbei entstanden in der Hauptsache Kohlendioxid und Wasser.

Trotzdem wurde eine Oxidation mit H_2O_2 durchgeführt. Um die Oxidation unter sehr schonenden Bedingungen durch-

zuführen, wurde einerseits nur sehr wenig Oxidationsmittel eingesetzt und andererseits in Natriumacetat gepufferter Lösung gearbeitet, um ein Absinken des pH-Wertes während der Oxidation weitgehend zu verhindern.

Nach einer Reaktionszeit von 2,5 Stunden war der pH-Wert von 7,4 auf 7,26 abgefallen. Überschüssiges H_2O_2 wurde durch Zusatz von Fe^{2+} entfernt und bei Raumtemperatur zur Trockene abrotiert. Der Rückstand wurde anschließend im Soxhlet mit Essigsäureäthylester 12 Stunden extrahiert Aus dem Filtrat erhielt man durch schonende Verdampfung des Lösungsmittels grüne, gelb schillernde äußerst sauerstoffempfindliche Kristalle mit einem Zersetzungspunkt von 78 °C.

Von dieser erhaltenen Substanz wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen. Das Spektrum zeigt Signale bei 1,26 ppm, die wieder langkettigen CH_2-Gruppen zugeordnet werden können wie bei der gereinigten unbehandelten Huminsäure. Interessant ist, daß keinerlei Resonanzen bei 2,0 ppm auftreten; d.h. die funktionalisierten CH_2-Gruppen konnten abgespalten werden. Weiterhin treten Signale im aromatischen und olefinischen Bereich auf. Anhand von Vergleichsspektren ergaben sich jedoch Hinweise auf Pyrrol- bzw. Indolderivate.

Ein von dieser Substanz angefertigtes Massenspektrum

zeigt Peaks bei m/e 224, 195, 167, entsprechend Abspaltungen von -CHO, CO und H_2O. Ab dem Fragmention 149 stimmt die weitere Fragmentierung recht gut mit derjenigen der Vergleichsverbindung 5,6-Dihydroxyindol überein.

In Abb. 31 ist das Massenspektrum dargestellt.

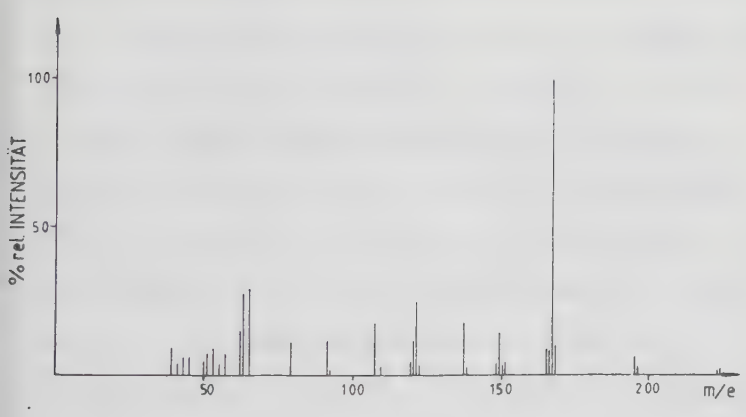


Abb. 31: Massenspektrum der isolierten Verbindung

7.11. Oxidation von HS mit H_2O_2 bei gleichzeitiger Extraktion

Um bei der Oxidation von HS mit H_2O_2 eventuell auftretende Spaltprodukte abzufangen, wurde das Reak-

tionsgemisch laufend mit Essigsäureäthylester extrahiert, wobei der gesamte Essigsäureäthylester nach 3 Stunden Reaktionszeit durch neuen ersetzt wurde. Nach einer Reaktionszeit von 18 Stunden war die anfänglich dunkelbraune wässrige Lösung hellgelb. Aus den vereinigten Essigesterextrakten konnte eine ölige Flüssigkeit isoliert werden, von der ein Massenspektrum angefertigt wurde (Abb. 32).

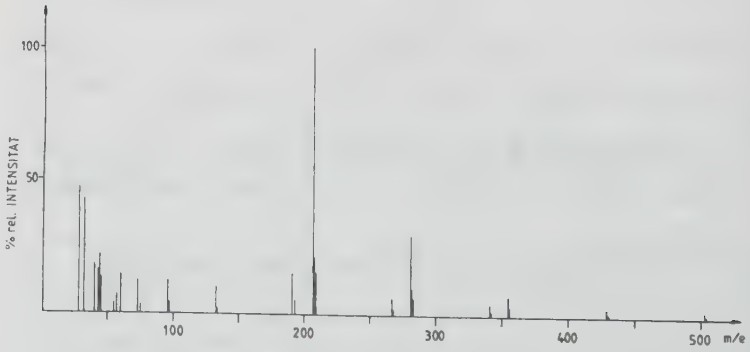


Abb. 32: Massenspektrum der isolierten Verbindung

Interessant ist bei diesem Massenspektrum eine sich

fünfmal wiederholende Abspaltung von 74 Masseneinheiten; diese Abspaltung von m/e 74 wird von (70) bei der massenspektrometrischen Untersuchung von Triglyceriden beschrieben.

Ein davon ebenfalls aufgenommenes ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 33) zeigt, daß aromatische Resonanzen praktisch verschwunden sind; hingegen treten Signale im olefinischen Bereich schwach erkennbar auf. Die drei Hauptsignale im aliphatischen und Polyether-Bereich (1,2; 2,0 und 3,6 ppm) spalten jeweils in mehrere Einzelsignale auf, zusätzlich tritt ein Signal bei 1,6 ppm auf. Diese neu hinzugekommene Resonanz dürfte von CH_2-Gruppen herrühren, die sich in β- und γ- Stellung zu einem Sauerstoffatom befinden. Der Anteil der funktionalisierten CH_2-Gruppen (bei 2,0 ppm) nimmt zugunsten der CH_2-Gruppen in cyclischen Ethern bzw. Lactonen ab.

Im aliphatischen Bereich tritt ein Triplett mit einem Zentrum bei 1,24 ppm mit einer Kopplungskonstanten von 7,1 Hz auf. Das dazugehörige Quartett bei 3,71 ppm wird teilweise durch andere Resonanzen überlagert. Beide Signalgruppen können jedoch nach chemischer Verschiebung und Kopplungskonstante als $-O-CH_2-CH_3-$ Gruppe identifiziert werden. Die Resonanzen bei 4,22 ppm könnten von einer CH-Gruppe eines Glycerinethers herrühren.

Damit dürfte es sich bei dem vorliegenden Produkt hauptsächlich um ein Glycerinetherspaltprodukt handeln.

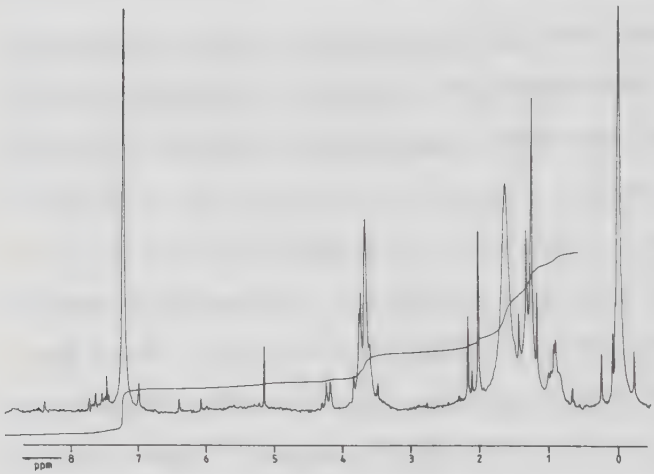


Abb. 33: ^{1}H-NMR-Spektrum des isolierten Spaltproduktes

Aus der wässrigen Phase wurden hellgelbe Kristalle erhalten, die sich bei 110 °C zersetzen. Ein davon aufgenommenes Massenspektrum (Abb.34) zeigt Peakgruppen bei m/e 166, 150, 136, 125, 110, 98, 82, 73, 6o und 44 und stimmt mit demjenigen von C. Saiz-Jimenez, K. Haider und H.L.C. Meuzelaar (71) aufgenommenen aus Bodenproben extrahierten Huminen sehr gut überein.

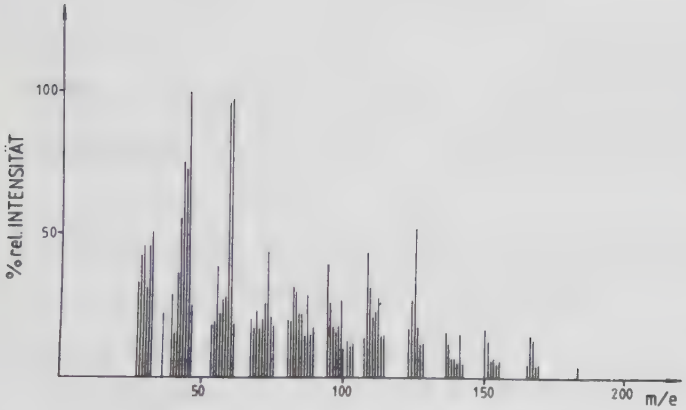


Abb. 34: Massenspektrum der Huminsäure nach Oxidation mit H_2O_2.

7.12. Photochemische Spaltung von Huminsäuren

500 mg HS wurden in Wasser gelöst und unter starkem Rühren 145 Minuten mit einer Hg-Hochdrucklampe bestrahlt. Nach Beendigung der Bestrahlung wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels konnten weiße Kristalle und ein blaß gelbes Öl erhalten werden. Durch massen-

spektrometrische Untersuchung des gelblichen Öls konnte dieses als ein Gemisch aus Phtalsäuredibutylester bzw. -dioctylester durch Vergleichsspektren identifiziert werden.

Von den erhaltenen weißen Kristallen wurde ein ^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen. Anhand dieses Spektrums konnte eindeutig die Substanz als Terephtalsäuredimethylester identifiziert werden (aromatische H : 7,9 ppm (S,4H); Methoxy: 4,15 ppm (S,6H)).

Die extrahierte wässrige HS-Lösung wurde anschließend über eine Membran mit Ausschlußgrenze von 1000 dalton ultrafiltriert. Man erhält einen Anteil von 56 % mit einem Molekulargewicht von $<$1000 dalton und einen von 24 % mit einem Molekulargewicht von $>$1000 dalton. Die Elementarzusammensetzung der eingesetzten HS sowie der erhaltenen Spaltstücke ist in Tabelle 18 zusammengestellt.

	C %	H %	N %	S %	O %	Aschegehalt %
ungespaltene HS	39,06	5,46	5,45	3,44	46,59	4,59
Anteil $>$1000 dalton	38,68	5,57	4,79	2,05	48,91	5,10
Anteil $<$1000 dalton	33,95	5,86	7,31	4,69	48,19	9,17

Tabelle 18: Elementarzusammensetzung der eingesetzten Huminsäure sowie der Bruchstücke.

Wie aus Tabelle 18 zu ersehen ist, nimmt der Kohlenstoff-Gehalt verglichen mit der eingesetzten Huminsäure im Bruchstück mit dem Molekulargewicht < 1000 dalton wesentlich stärker ab als im Bruchstück mit dem Molekulargewicht > 1000 dalton, während der H-Gehalt annähernd konstant bleibt. Der N-, S- und Asche-Gehalt nimmt jeweils im Spaltstück > 1000 dalton ab und im Spaltstück < 1000 dalton zu, während der % Anteil an Sauerstoff in beiden zunimmt.

Die erhaltenen Spaltstücke liefern auch im Gegensatz zur unbehandelten Huminsäure Massenspektren.

In Abb. 35 ist das Massenspektrum des Spaltstücks < 1000 dalton dargestellt.

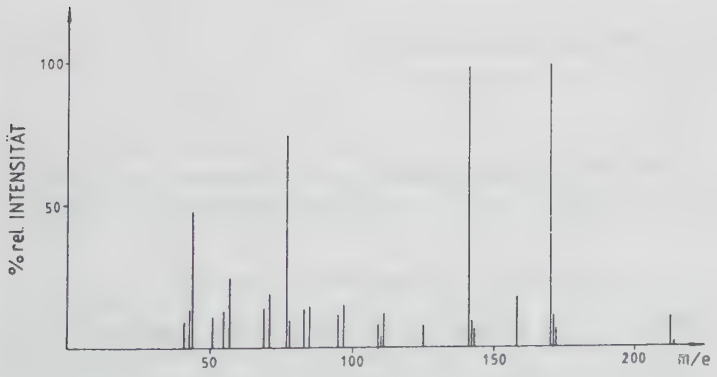


Abb. 35: Massenspektrum des Spaltstückes < 1000 dalton

Dieses Massenspektrum zeigt dominante Peaks bei m/e 213, 170, 141 und 77. Die Abspaltung von 43 bzw. 29 Masseneinheiten weist auf CH_3CO- und -CHO- Gruppen hin.

Von diesem Spaltstück wurde auch ein ^1H- und ein ^{13}C-NMR-Spektrum aufgenommen. In Abb. 36 ist das ^1H-NMR-Spektrum abgebildet.

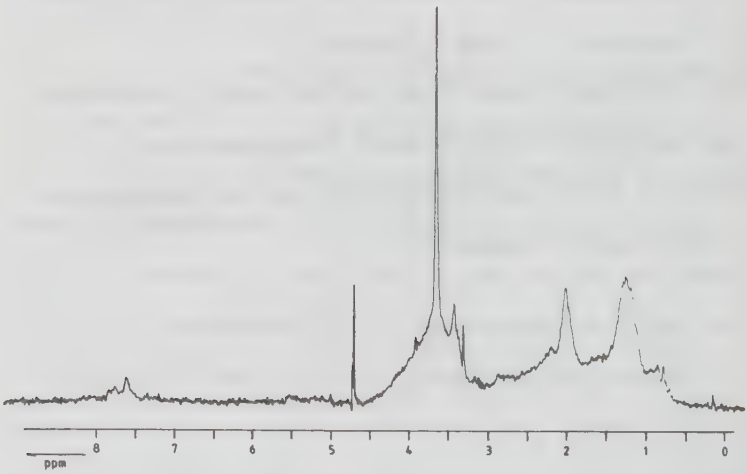


Abb. 36: ^1H-NMR-Spektrum des Spaltstückes < 1000 dalton

Interessant in diesem Spektrum ist das Auftreten einer schwachen Resonanz bei 0,16 ppm, die einer $-O-\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{CH_3}{|}}{Si}}-O-$ Gruppierung zugeordnet werden muß. Im aliphatischen

Bereich treten wieder die drei Hauptresonanzen bei 1,2; 2,0 und 3,6 ppm auf. Bei 0,9 ppm ist eine bessere Strukturierung zu erkennen; sie weist auf endständige CH_3-Gruppen an unterschiedlichen CH_2-Ketten hin. Die Resonanzen im aromatischen Bereich erscheinen strukturierter, während die Signale im Doppelbindungsbereich abgenommen haben.
In Abb. 37 ist das ^{13}C-NMR-Spektrum des gleichen Spaltstücks abgebildet.

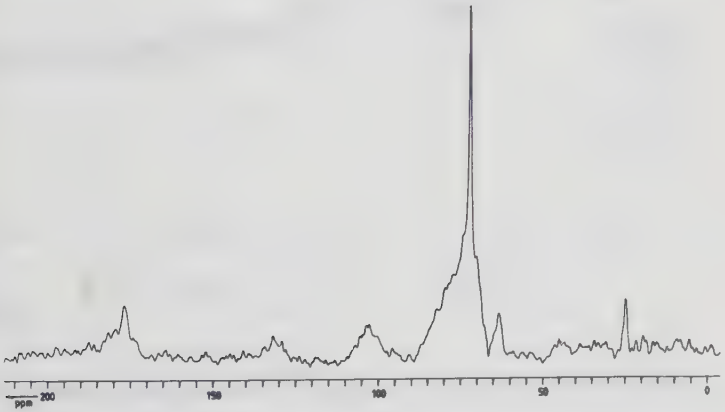


Abb. 37: ^{13}C-NMR-Spektrum des Spaltstücks $\leq$1000 dalton

Wie daraus zu ersehen ist, wurde eine zunehmende

Strukturierung erhalten (vgl. Abb. 33). Erstmalig sind deutliche Signale im aromatischen Bereich neben Resonanzen im Doppelbindungsbereich zu erkennen (140 - 110 ppm). Auch im Carbonylbereich ist eine zunehmende Strukturierung zu verzeichnen; eine genauere Zuordnung ist jedoch noch nicht möglich.

In Abb. 38 ist das Massenspektrum des Spaltstücks > 1000 dalton abgebildet.

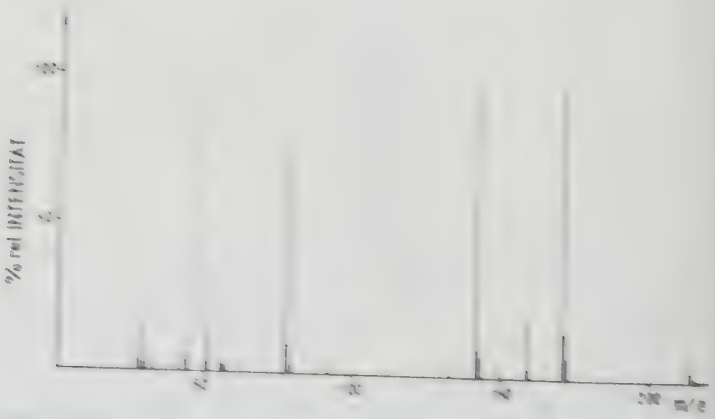


Abb. 38: Massenspektrum des Spaltstücks > 1000 dalton

Das Massenspektrum zeigt ebenfalls dominante Peaks bei m/e 213, 170, 158, 141 und 77 und ist mit dem des Spaltstücks < 1000 dalton identisch.

Von diesem Bruchstück wurde wieder ein ^{1}H- und ein

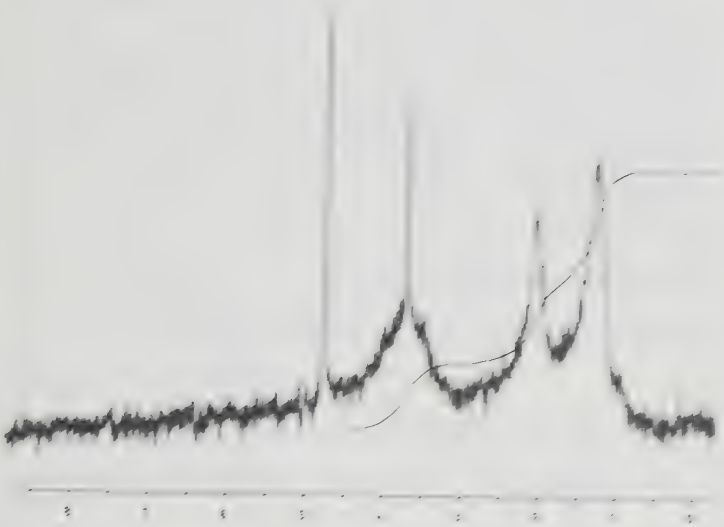


Abb. 12: ^{1}H-NMR-Spektrum von Benzylidenaceton in $CDCl_3$

Aus dem Spektrum ist ersichtlich, daß die drei Protonsignalgruppen eine im Bereich niedrigerer Feldstärke, nämlich bei 6,8; 7,1 und 7,5 ppm liegen. Entsprechend Tab. 7 müssen diese drei Signale den olefinischen Protonen zuzuordnen sein, während das Signal bei 2,4 ppm dem Methylprotonen

(1,2 ppm) zu funktionalisierten CH_2-Gruppen (2,0 ppm) den gleichen Wert wie in der ungespaltenen Abwasser-Huminsäure besitzt, wobei die langkettigen CH_2-Gruppen dominieren (CH_2 : CH_2 funkt. = 1,2 : 1). Resonanzen im aromatischen Bereich sind wesentlich schwächer als im Bruchstück < 1000 dalton. Ebenfalls wie im Spaltstück < 1000 dalton ist das Signal bei 0,16 ppm zu erkennen, das einer $-O-\overset{CH_3}{\underset{CH_3}{Si}}-O-$-Gruppierung zugeordnet werden muß.

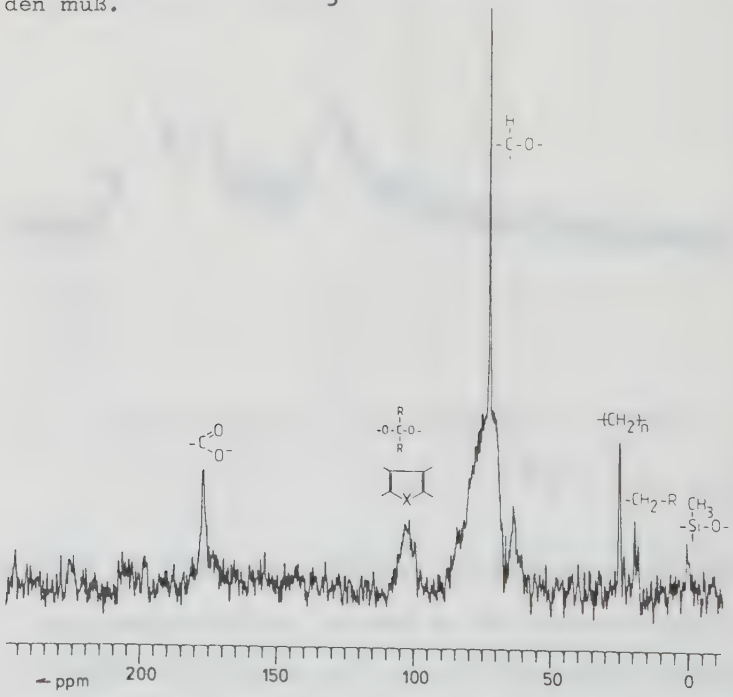


Abb. 40: ^{13}C-NMR-Spektrum des Bruchstücks > 1000 dalton

Das ^{13}C-NMR-Spektrum zeigt mehrere Resonanzen von - 0,78 ppm bis + 0,3 ppm. Diese Signale werden wieder von den oben erwähnten $-O-\overset{CH_3}{\underset{CH_3}{Si}}-O-$ Gruppierungen hervorgerufen. Der aliphatische Bereich ist von allen Bereichen der am besten strukturierte Bereich. Die Resonanzen bei 21 ppm spalten auf und rühren von funktionalisierten CH_2-Gruppen bzw. unterschiedlichen CH_3-Endgruppen her. Das Signal bei 24,6 ppm dürfte auf langkettige CH_2-Gruppen hinweisen. Die neu auftretende Resonanz bei 63 ppm könnte auf cyclische Ether hindeuten. Die restlichen Signale entsprechen denjenigen der ungespaltenen nativen Huminsäuren.

In Abb. 41 und 42 sind die CD-Spektren der Spaltstücke $>$ 1000 dalton und $<$ 1000 dalton dargestellt.

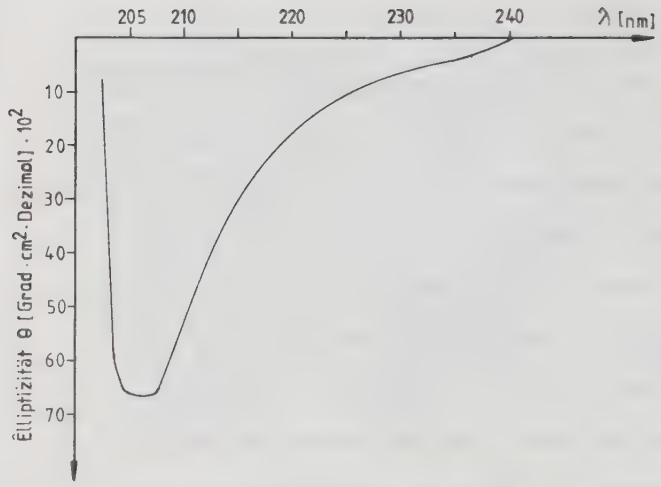


Abb.41: CD-Spektrum des Spaltstücks ≈1000 dalton

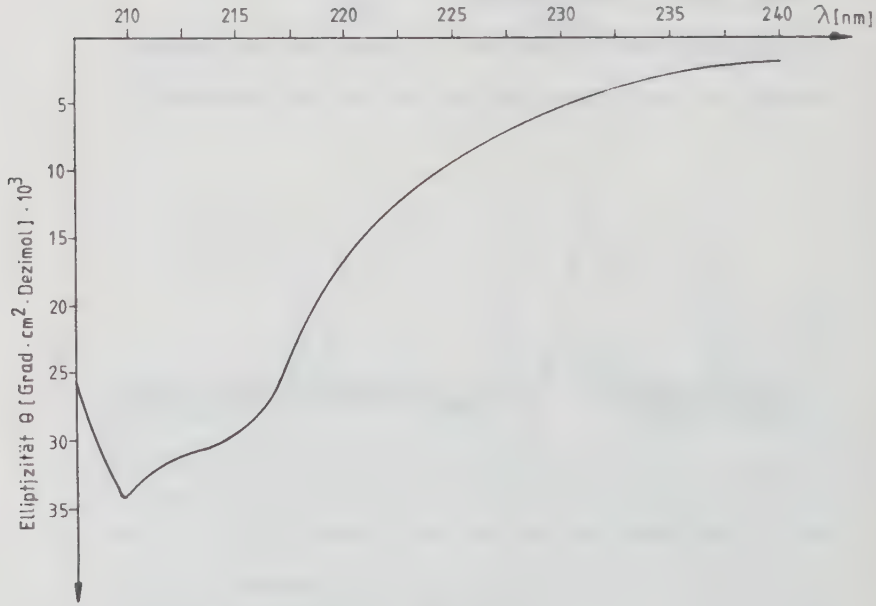


Abb.42: CD-Spektrum des Spaltstücks ≈1000 dalton

7.13. Versuch zur weitergehenden photochemischen Spaltung von Huminsäuren durch Verlängerung der Bestrahlung

Um zu untersuchen , ob sich Huminsäuren durch längeres Bestrahlen in noch kleinere Bruchstücke spalten lassen, wurden wieder 500 mg HS, wie in 7.12. beschrieben, in Wasser gelöst und unter starkem Rühren 270 Minuten mit einer Hg-Hochdrucklampe bestrahlt. Nach Beendigung der Bestrahlung wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan extrahiert. Es ließen sich dabei analog 7.12. wieder Phtalsäurebutylester bzw. -dioctylester nachweisen.

Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Ether mehrmals extrahiert. Nach dem vorsichtigen Abziehen des Lösungsmittels wurde ein hellgelbes Öl erhalten, das mittels GC-MS untersucht wurde.
Die Probe wurde im Gaschromatographen über eine Glaskapillarsäule aufgetrennt. Die intensivsten Peaks wurden anhand ihrer Massenspektren charakterisiert.
Auffallend dabei sind die häufig auftretenden dominanten Peaks bei m/e 73,44 und 42. Das Auftreten dieser Peaks weist auf das Vorliegen von niedermolekularen Glycerinprodukten hin, wie durch Vergleichsmassenspektren gefunden werden konnte.
Die extrahierte wässrige Huminsäure-Lösung wurde dann

vorsichtig zur Trockene eingedampft. Von der erhaltenen HS wurde die Elementarzusammensetzung bestimmt(Tab. 19) .

	C %	H %	N %	S %	O %	Aschegehalt %
HS ungespalten	39,06	5,46	5,45	3,44	46,59	4,59
HS gespalten	36,86	5,62	4,97	3,89	48,66	5,22

Tabelle 19 : Elementarzusammensetzung der ungespaltenen und der gespaltenen Huminsäure.

Wie aus Tabelle 19 zu ersehen ist, verändert sich die Elementarzusammensetzung nur wenig. Der C-Gehalt nimmt um ca. 2 % ab, während der O-Gehalt um 2 % zunimmt.

Ein ebenfalls angefertigtes ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektrum ist in Abb. 43 bzw. 44 dargestellt.

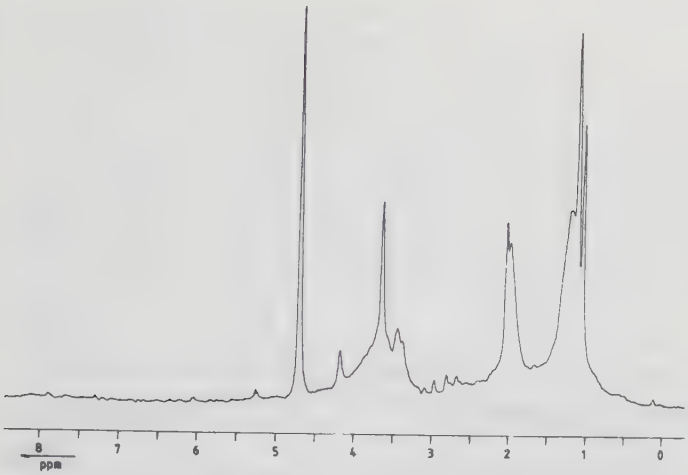


Abb. 43: ^{1}H-NMR-Spektrum der HS nach Bestrahlung

Das ^{1}H-NMR-Spektrum zeigt eine zunehmende Strukturierung im aliphatischen Bereich. Das Signal im Verschiebungsbereich der langkettigen CH_2-Gruppen (1,2 ppm) ist aufgespalten, während die Resonanzen für CH_3-Gruppen (0,9 ppm) verschwunden sind. Des weiteren ist zu erkennen, daß die funktionalisierten CH_2-Gruppen (2,0 ppm) ebenso abgenommen haben, wie die Polyether (3,6 ppm). Die neu auftretende Resonanz bei 4,18 ppm dürfte von einer α-ständigen CH_2-Gruppe eines Esters herrühren. Signale im aromatischen Bereich sind nur sehr schwach erkennbar.

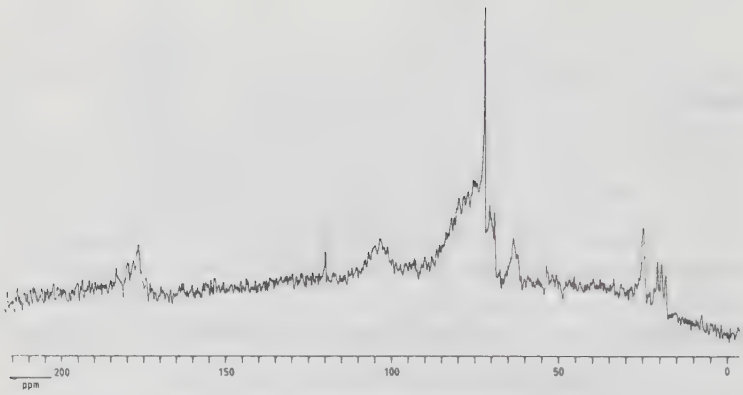


Abb. 44: ^{13}C-NMR-Spektrum der HS nach Bestrahlung

Im ^{13}C-NMR-Spektrum dieser Huminsäure sieht man ebenfalls eine zusätzliche Strukturierung sowohl im aliphatischen Bereich als auch im Polyether- und Carbonyl-Bereich. Das Signal bei 25 ppm könnte von einer CH-Gruppierung stammen, die eine Kohlenstoffverzweigung trägt. Die Resonanzen bei 60 - 63 ppm sind bei dieser Spaltungsmethode erhalten geblieben. Im Carbonyl-Bereich tritt neben dem bekannten Signal bei 176 ppm eine neue Resonanz bei 184 ppm auf, die unter Umständen von einem Aldehyd- bzw. Keton-C-Atom hervorgerufen wird.

8. Darstellung von Melaninen

Zahlreiche Streptomyces-Arten zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, auf gewissen Nährböden dunkelbraune Pigmente zu bilden. Diese Melaninbildung ist beim Menschen, im Tierreich, bei höheren Pflanzen und bei Pilzen weit verbreitet.

Der Mechanismus wurde an zahlreichen Objekten untersucht und wird nach Mason (73) folgendermaßen angenommen: als Ausgangssubstrat dient das Tyrosin, das durch Tyrosinase zu 3,4 -Dihydroxyphenylalanin (Dopa) unter Verwendung molekularen Sauerstoffs oxidiert wird; Dopa wird nun entweder durch dasselbe Enzym weiter oxidiert oder unterliegt - besonders im alkalischen Medium - einer Autoxidation. In jedem Fall kommt es zu reaktionsfähigen Oxidationsprodukten, die zu dem makromolekularen Melanin polymerisieren.

Es erhebt sich nun die Frage nach den Beziehungen zwischen der Melaninbildung und der Bildung der Huminsäuren, da eine exakte Trennung beider Stoffe bisher nicht möglich war. Durch die Darstellung verschiedener Melanine sollte die Möglichkeit gegeben werden, Strukturmerkmale dieser mit denen der Huminsäuren zu vergleichen.

8. 1. Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Luftsauerstoff

Dazu wurde Dopa in Wasser gelöst, o,1 m Phosphatpuffer zugesetzt und durch die Lösung ein Luftstrom geleitet. Die anfangs klare Lösung verfärbte sich langsam über rosa und braun nach schwarz. Nach einer Reaktionszeit von 140 Stunden wurde das gebildete Melanin über eine Membran mit der Ausschlußgrenze von 1000 dalton ultrafiltriert, um von niedermolekularen Anteilen und Salzen abzutrennen.

Die Elementaranalyse des erhaltenen Produktes ergab folgende Werte: 46,33 % C; 3,05 % H; 6,68 % N; 0,45 %S 43,49 % O. Die Elementarzusammensetzung dieses Melanins unterscheidet sich ganz erheblich von der der nativen Huminsäure (vgl. Tab. 13). Das Produkt ergab auch kein Massenspektrum sowie keinerlei Resonanzen im ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektrum.

8.2. Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit $K_3[Fe(CN)_6]$

Eine Dopa-Lösung wird in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat mit Kaliumhexacyanoferrat (III) oxidiert. Die dunkelrote Reaktionslösung wird mit Zinkacetat versetzt und kräftig geschüttelt. Nachdem sich die dunkelrote Far-

be nach Grau verwandelt hat, fügt man Natriumdithionit zu, um eine weitere Oxidation zu verhindern. Das ausgefallene Zinkferrocyanid wird abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Die dunkelbraune Lösung wurde über eine Membran mit der Ausschlußgrenze von 1000 dalton ultrafiltriert, um das Melanin von unumgesetztem Dopa, niedermolekularen Anteilen, sowie Salzen abzutrennen. Nach dem Gefriertrocknen erhielt man ein dunkelbraunes Produkt, welches keinerlei spektroskopische Ähnlichkeit mit den nativen Huminsäuren besaß.

8.3. Darstellung von Melanin durch Oxidation von 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Singulett-Sauerstoff [1)]

Dazu wird Dopa in Wasser gelöst, 0,1 m Phosphatpuffer pH 8 zugegeben und mit Eosin versetzt. Das Eosin überträgt die eingestrahlte Energie auf den Sauerstoff, der dann in den Singulett-Zustand angehoben wird. Der auf diese Weise erzeugte Singulett-Sauerstoff oxidiert das Dopa, welches dann zu Melanin polimerisiert. Unter Bestrahlung mit einer Hg-Mitteldrucklampe mit Filter, welches die Strahlung mit $\lambda \leq 290$ nm herausfiltert, leitet man durch diese Lösung drei Stunden Sauerstoff.

1) Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Meier für die Möglichkeit zur Durchführung der Versuche.

Nach Beendigung der Reaktionszeit hatte sich die Lösung dunkelgrün gefärbt. Sie wurde anschließend wieder über eine Membran mit der Ausschlußgrenze von 1000 dalton ultrafiltriert, phosphatfrei gewaschen, eingeengt und lyophilisiert.

Man erhielt ein dunkelbraunes Produkt mit folgender Elementarzusammensetzung: 43,61% C; 3,23 % H; 6,72 % N; 2,87 % S; 43,57 % O.

Dieses Produkt lieferte auch ein Massenspektrum, welches in Abb. 45 dargestellt ist.

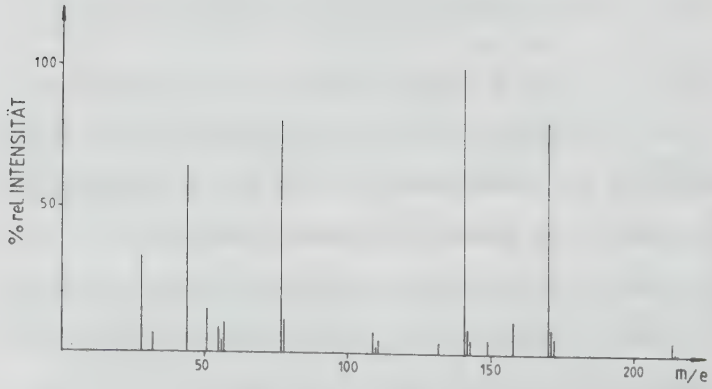


Abb. 45: Massenspektrum von Melanin

Dieses Massenspektrum zeigt dominante Peaks bei m/e 213, 170, 158, 141 und 77.

Es ist mit dem in Abb.35 dargestellten Massenspektrum identisch, welches vom Spaltstück < 1000 dalton der photochemisch gespaltenen Huminsäure erhalten werden konnte. Ein genau gleich durchgeführter Versuch, jedoch ohne Eosin, erbrachte ein Produkt, das keine spektroskopische Ähnlichkeiten mit dem über Singulett-Sauerstoff oxidierten Dopa hatte.

Es wäre interessant, die durch die Fragmentierung festgestellte Ähnlichkeit des mit Singulett-Sauerstoff oxidierten Dopa mit Huminsäure durch NMR-Messungen zu überprüfen. Die hier isolierten Mengen an Oxidationsprodukt waren für NMR-Untersuchungen zu klein.

9. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Genese von Huminsäuren bei der aerob-thermophilen Behandlung von Klärschlamm untersucht.
Es konnte gezeigt werden, daß Huminsäuren in den mesophilen Bakterienzellen zu 5,8 %, bezogen auf die Bakterientrockensubstanz, vorliegen. Bei dem Versuch eine "Adaption" von mesophilen Mikroorganismen an thermophile Bereiche durchzuführen, d.h. eine Selektion und Anreicherung von thermophilen Bakterien zu erreichen, wurde auch eine Verschiebung des Maximums der Dehydrogenasenaktivität zu höheren Temperaturen festgestellt. Dies bedeutet, daß über einen längeren Zeitraum eine Selektion und Anreicherung von thermophilen Bakterien durch höhere Temperaturen möglich ist.
In einer Versuchsanlage wurde Klärschlamm einer aerob-thermophilen Behandlung unterzogen, wobei zuerst die Sauerstoffzufuhr variiert wurde. Es zeigte sich, daß die Bildung von Huminsäuren nicht von der Sauerstoffzufuhr abhängt, Huminsäuren also nicht durch eine chemische Oxidation gebildet werden.

Weitere Versuche bei optimaler Sauerstoffzufuhr, verbesserter Isolierung des Systems und Steigerung der

Anfangskonzentration an Bakterienmasse erbrachten erhöhte Reaktionstemperaturen im aerob-thermophilen System. Eindeutig und gleichartig ist in jedem Versuch der Zusammenhang zwischen der Abnahme an Bakterientrokkensubstanz und der Bildung von Huminsäuren. Die gebildete Menge Huminsäuren pro Gramm abgebaute Bakterientrockensubstanz nimmt mit steigender Temperatur des Reaktors zu und erreicht bei 54 °C einen Wert von 29,5 %. Die verwendete Isolierungsmethode ermöglichte den Zugang zu reinen nativen Huminsäuren erstmals in größerer Menge.

Zur Charakterisierung der isolierten Huminsäuren wurden spektroskopische Methoden wie IR-, CD-und vor allem NMR-Messungen, sowie die Elementaranalyse und Metallremobilisierungseigenschaften herangezogen.
Die IR-Spektren der nativen Huminsäuren zeigen eine gute Übereinstimmung mit den IR-Spektren von Huminsäuren aus Meeres-Sedimenten und Bodenproben.

Die Elementarzusammensetzung der aus den einzelnen Versuchen isolierten Huminsäuren schwankt nur in sehr engen Grenzen und stimmt mit denjenigen aus der Literatur sehr gut überein.

Die beim aerob-thermophilen Abbau gebildeten Huminsäuren zeigen analoge Komplexierungseigenschaften gegenüber Schwermetallen wie Bodenhuminsäuren, wobei Cadmium bevorzugt komplexiert wird.

Aus den ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren der gelösten nativen Huminsäure ergibt sich eindeutig das Vorhandensein von Etherfunktionen. Ausgehend von dem Integrationsverhältnis des ^{1}H-NMR-Spektrums kann ein Etheranteil von ca. 30 % bestimmt werden. Durch Vergleichsmessungen von unterschiedlich hergestellten Glycerinkondensationsprodukten (vgl. Abb. 14) ergibt sich eine gute Übereinstimmung in den ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren. In den Massenspektren der photochemisch gespaltenen Huminsäuren ist ebenfalls eine Abspaltung von m/e 74 zu beobachten, die von (70) bei der massenspektrometrischen Untersuchung von Triglyceriden beschrieben wird. Weiterhin zeigen die nativ gewonnenen Huminsäuren optische Aktivität, was auf einen geregelten Strukturaufbau schließen läßt.

Ausgehend von den oben genannten Befunden, dürfte deshalb ein Großteil der im Molekül vorhandenen Etherfunktionen in der Form von Glycerinethern vorliegen.

Die aliphatischen Bestandteile liegen hauptsächlich in Form

von langkettigen CH_2- und funktionalisierten CH_2-Gruppen vor. Aromatische und heteroaromatische Anteile sind bereits in den nativen Huminsäuren vorhanden; der Anteil der aromatisch gebundenen C-Atome nimmt während der Alterung zu.

Carbonsäure und Carbonsäureester sind in allen Spektren detektierbar und dürften über aliphatische Seitenketten gebunden sein. Aus unterschiedlichen Aufarbeitungsverfahren (wie sie hier und in (8) vorgestellt wurden) folgen gleiche Ergebnisse des Substitutionsmusters der aromatischen Anteile: es liegt ein 2 - 4fach substituierter monocyclischer Aromat vor, wobei mindestens ein Substituent Sauerstoff sein muß.

Um Huminsäuren unter sehr schonenden Bedingungen zu spalten, wurde eine neue Methode angewandt. Die photochemische Spaltung ergibt einen sehr hohen Anteil von Molekulargewicht 1000 dalton. Die erhaltenen Massenspektren der Spaltstücke sind identisch, ebenso die ^{13}C-NMR-Spektren. Auch die CD-Spektren der Spaltstücke zeigen, daß die Anzahl der chromophoren Gruppen im niedermolekularen Anteil gegenüber der ungespaltenen Huminsäure unverändert bleibt. Die Lage der Banden im CD-Spektrum weist auf Carbonyl-Chromophore hin.

Durch die Darstellung und massenspektrometrische Unter-

suchung verschiedener Melanine konnte gezeigt werden, daß Melanin, aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin und Singulett-Sauerstoff hergestellt, gleiche Komponenten wie die Huminsäuren enthält.
Auch die durchgeführten Oxidationen von Huminsäuren mit H_2O_2 erbrachten neue Hinweise auf die Struktur der Huminsäuren.

Die PE-MAS[x]-^{13}C-NMR-Spektren der genetisch verwandten Torf- und Braunkohle-Huminsäureproben zeigen qualitativ, daß der Anteil der Polyether mit zunehmendem Alter abnimmt, während gleichzeitig aromatische Anteile verstärkt auftreten. In den Torf- bzw. Braunkohle-Huminsäureproben befinden sich neben Huminsäure-Anteilen auch Ligninanteile, was beispielsweise an den neu auftretenden Resonanzen bei 55 ppm (Methoxy-Gruppen) zu erkennen ist. Dadurch wird eine vergleichende Interpretation insbesondere der alipathischen Anteile problematisch.

Die Abnahme des Sauerstoff-Gehaltes kann nicht nur aus der Abnahme der relativen Intensität des Polyetherbereiches festgestellt werden, sondern auch aus der zunehmenden Unstrukturiertheit des aromatischen und heteroaromatischen Bereiches beim Übergang von Torf auf

---

[x] PE-MAS: Proton Enhanced Magic Angle Spinning

Braunkohle.

Geben die ppm-Werte im aromatischen Verschiebungsteil des Torf-Spektrums noch eindeutige Hinweise auf monocyclische ortho-substituierte Aromaten, so lassen Signallage und Intensität im Braunkohle-Huminsäurespektrum einen eindeutigen Übergang zu nicht funktionalisierten aromatischen Systemen erkennen.

Der Sauerstoff als tragendes Bindungsprinzip bei nativen Huminsäuren ist durch die vorliegende Arbeit eindeutig nachgewiesen und konnte erstmals in Form eines sinnvollen Strukturelementes bezogen auf die Elementarzusammensetzung dargestellt werden.

Zur Lösung der komplexen Problematik hat sich die Nutzung einer Pilot-Anlage in Verbindung mit der Möglichkeit schonendster Aufarbeitung, sowie modernster Analytik, speziell NMR-Spektroskopie, insbesondere PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektroskopie äußerst bewährt. Die in der Arbeit abgebildeten PE-MAS-Spektren von Huminsäuren dürften weltweit die zuerst publizierten sein.

III. Experimenteller Teil

1. Geräte

Ultraschallgenerator B-10, Branson-Sonifier

Elementar Analyser Model 240, Perkin Elmer

Atomabsorptionsspektrometer 1248, Beckmann

NMR-Spektrometer Bruker WH 90 mit Computer-Einheit BNC 28

NMR-Spektrometer Bruker WP 80

IR-Spektrograph, Infracord, Perkin Elmer

Spektralphotometer PMQ II und M4Q III, Zeiss

Gaschromatograph, Fraktovap 2920, Carlo Erba

Massenspektrometer Mat 112 S, Varian

Massenspektrometer Mat 711, Varian

Hg-Mitteldrucklampe Hanovia 679 A 36 444679 mit Filter

Hg-Hochdrucklampe Q 150, Orginal Hanau

2. Isolierung von Huminsäuren durch Ultraschallaufschluß von Bakterienmasse

4 l frischer Belebtschlamm mit einer Trockensubstanz von 2,88 g/l und einem Glühverlust von 79,7 % wurden filtriert, mit 300 ml Wasser gewaschen, anschließend in 800 ml bidest. Wasser aufgeschlämmt und unter Kühlung und starkem Rühren mit Ultraschall mit einer Schallenergie von 60 Watt 1 Std. beschallt. Danach wurde unter Druck (2-2,5 bar Stickstoff) über ein Glasfaser-Vorfilter (Selectron GF 92) und ein Selectron BA 83/1 Filter der Porengröße 0,2 µm der Fa. Schleicher & Schüll filtriert.

Das Filtrat wurde dann auf Huminsäuren wie unter 3. beschrieben untersucht.
Der Filterrückstand wurde anschließend in 800 ml 1 molarer NaCl-Lösung aufgeschlämmt und nochmals unter Kühlung und starkem Rühren mit Ultraschall (60 Watt) 30 min. beschallt. Die Filtration erfolgte wie oben beschrieben.
Eine nochmalige Beschallung in 2 molarer NaCl-Lösung wurde unter den gleichen Bedingungen durchgeführt.

3. Quantitative Bestimmung und Isolierung von Huminsäuren

Zur Bestimmung der HS-Konzentration in den durchgeführten Stand- und Durchlaufversuchen der aerob-thermophilen Behandlung von Klärschlamm wurden täglich Proben gezogen.

Die Proben wurden sofort sterilfiltriert, um weitere mikrobiologische Prozesse auszuschalten. Die Sterilfiltrationszelle wurde über ein Vorratsgefäß (Volumen 1 l) gespeist. Die Sterilfiltration erfolgte wieder unter Druck (2-2,5 bar Stickstoff) über ein Glasfaser-Vorfilter (Selectron GF 92) und ein Selectron BA 83/1 Filter der Porengröße 0,2 µm der Fa. Schleicher & Schüll. Nach der Sterilfiltration wurden die Proben sofort weiterverarbeitet.

Zur selektiven Isolierung der Huminsäuren wurde die Ultrafiltration eingesetzt. Die Ultrafiltrations- und Sterilfiltrationszellen wurden in der Werkstatt des Chemischen Zentral-Instituts der Universität Tübingen angefertigt.

Die Ultrafiltration ist eine beschleunigte Dialyse über Membranfilter. Verwendet wurden anfänglich UM-2-Membranen (Ausschlußgrenze 1000 Dalton) und UM-10-Membranen (Ausschlußgrenze 10 000 Dalton) der Fa. Amicon. Später wur-

den Polysulfonmembranen mit den gleichen Ausschlußgrenzen aus eigener Herstellung verwendet. Die Herstellung dieser Membranen wird im nächsten Abschnitt beschrieben.

In einer Ultrafiltrationsdruckzelle, die kontinuierlich über ein Vorratsgefäß (Volumen 5 l) mit vorbereitetem Sterilfiltrat beschickt wird, konzentriert man unter kräftigem Rühren die Probe auf das 10 - 50fache (Druck: 2 - 2,5 bar Stickstoff). In der gleichen Apparatur kann die Probe sofort unter Konstanthaltung des Volumens mit bidestilliertem Wasser gespült werden (Diafiltration).

Die von 500 ml auf 20 ml konzentrierten Proben wurden bis zur vollständigen Entsalzung (Nachweis auf Chlorid, Sulfat, Ammonium, Phosphat und Nitrat im Eluat negativ) mit ca. der 10fachen Menge des Probenvolumens bidestilliertem Wasser gespült. Das entsalzte HS-Konzentrat wurde quantitativ aus der Ultrafiltrationszelle in ein Wägeglas überführt, lyophilisiert und gravimetrisch bestimmt.

Die so erhaltenen Roh-Huminsäuren wurden anschließend im Soxhlet 24 Stunden mit Dichlormethan extrahiert, um adsorbierte organische Stoffe wie Phtalsäureester zu entfernen.

4. Herstellung von Polysulfonmembranen (asymmetrische Membran)

Zur Herstellung wurde das Polymer der Fa. Union Carbide PSF P 1700 NAT 11 bzw. PSF P 3500 NAT 11 verwendet. Man stellt eine 20 %ige Lösung des obigen Polymers in N-Methylpyrrolidon her, indem man 80 g Lösungsmittel auf 60 - 70 °C erwärmt, 20 g Polymer auf einmal zugibt und über Nacht bei 60 - 70 °C weiterrührt. Nach dem Abkühlen wird soviel Methanol zugesetzt, daß die Polymerkonzentration 17-17,5 % beträgt (ca. 17 g). Danach wird die Polymer-Lösung 30 Minuten bei 3000 Upm zentrifugiert oder über eine Glasfritte filtriert. Diese so vorbereitete Polymer-Lösung wird auf eine plane Glasplatte aufgegossen und mit einem Ziehstab zu einem Film mit einer Schichtdicke von 0,2 - 0,3 mm ausgezogen. Das Polymer wird schließlich in einem wässrigen Fällbad bei einer Fälltemperatur von 10 °C ausgefällt.
Durch Variation der Polymerkonzentration, sowie der Fällbadtemperatur lassen sich Membranen mit den unterschiedlichsten Ausschlußgrenzen erhalten.

5. Messung der Dehydrogenasenaktivität

Die Dehydrogenasenaktivität wurde nach den DEV-Verfahren bestimmt.

In 2 Zentrifugengläsern wird je 1 ml des abgesetzten Schlammes mit chlorfreiem Leitungswasser auf 10 ml aufgefüllt. Gleichzeitig wird die Trockenmasse von 1 ml abgesetztem Schlamm durch Trocknen bei 105 °C bestimmt. Die eine Probe wird mit 1 ml TTC-Lösung versetzt und gut umgeschüttelt. Sodann werden beide Proben bei 25 °C unter Lichtabschluß 1 Stunde inkubiert. Nach dieser Zeit werden sie 10-15 Minuten bei 6000 U/min. zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird sodann abgegossen und durch 10,0 ml Äthanol ersetzt. Nach kräftigem Umschütteln wird erneut abzentrifugiert und die klare alkoholische Lösung bei 480 nm (Schichtdicke 10,0 mm) photometriert.

Für die Untersuchung von Belebtschlammanlagen werden 10 ml Abwasser-Belebtschlammgemisch direkt aus dem Belüftungsbecken entnommen und ohne Sedimentation und Resuspendierung direkt untersucht.

Die biochemische Aktivität für Schlämme wird nach der

Formel

$$A_B = \frac{E_{480} \cdot 18800}{TS \cdot GV}$$

bestimmt.

Hierin bedeuten:

A_B = Aktivität des Schlammes in µg Formazan, gebildet durch 1 mg Schlammtrockenmasse

TS = Schlammtrockenmasse in der Probe nach Trocknen bei 105 °C in mg

GV = Glühverlust der Schlammprobe in %

E_{480} = Extinktion bei 480 mm

Herstellung der TTC-Lösung:

0,5 g 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid werden in 100 ml destilliertem Wasser gelöst und in einer dunklen Flasche aufbewahrt.

6. Bestimmung des Wassergehaltes und des Trockenrückstandes

Je nach dem voraussichtlichen Wassergehalt wird eine solche Probemenge in einer Porzellanschale eingewogen, daß bei hohem Wassergehalt des Schlamms der Trockenrückstand wenigstens 0,1 g beträgt. Bei geringerem Wassergehalt ist die Einwaage mindestens so groß zu wählen, daß die verwendete Teilprobe repräsentativ ist.
Die Probe wird im Trockenschrank bei 105 °C ± 2 °C getrocknet, bis der Rückstand äußerlich trocken erscheint; nach Erkalten im Exsikkator wird er zum ersten Mal gewogen. Das Gewicht des Trockenrückstandes wird als konstant angesehen, wenn das nach einer weiteren halbstündigen Trocknung erhaltene Gewicht von dem vorhergehenden um nicht mehr als 1 % abweicht.

Bei manchen Schlämmen kann es zweckmäßig sein, die Hauptmenge des Wassers auf dem Wasserbad zu verdampfen.

Bei größeren Rückstandsmengen besteht die Gefahr, daß Wasser eingeschlossen bleibt. Gegebenenfalls ist die Probe nach der ersten Trocknung aufzulockern.

Bei Bestimmung der Trockensubstanz (TS) von belebtem Schlamm ist das Wasser mit den gelösten Stoffen durch Filtration vor dem Trocknen abzutrennen.
Die Trockensubstanz von belebtem Schlamm ergibt sich aus der Gleichung:

$$\frac{c - a}{f} \cdot 1000 = TS$$

In dieser Gleichung bedeuten:

a Gewicht der leeren Schale, gegebenenfalls mit dem verwendeten Filter, in g

c Gewicht der Schale mit dem Trockenrückstand in g

f Volumen der Belebtschlammprobe, die filtriert wurde, in ml

TS Trockensubstanz (Feststoffgehalt) der Probe von belebtem Schlamm in g/l

Auch diese Bestimmung wurde nach den DEV-Verfahren durchgeführt.

7. Bestimmung des Glühverlustes

Der Glühverlust wurde nach den DEV-Verfahren bestimmt. Der Trockenrückstand einer Probe oder ein nach intensiven Mischen gewogener Teil derselben wird in einem Tiegel vorsichtig verascht und 30 Minuten bei 500 °C geglüht. Nach Erkalten im Exsikkator wird der Glührückstand zum ersten Mal gewogen. Sein Gewicht wird als konstant angesehen, wenn das nach weiterem halbstündigen Glühen bei 550 °C im vorgeheizten Ofen erhaltene Gewicht von dem vorhergehenden um nicht mehr als 1 % abweicht.

Der Glühverlust des Trockenrückstandes eines Schlamms oder festen Abfallstoffes ergibt sich aus der Gleichung:

$$\frac{b - c}{b - a} \cdot 100 = G$$

In dieser Gleichung bedeuten:

a Gewicht des leeren Tiegels in g

b Gewicht des Tiegels mit Trockenrückstand in g

c Gewicht des Tiegels mit Glührückstand in g

G Glühverlust des Trockenrückstandes in Gewichtsprozent.

8. Bestimmung des Ammonium-Stickstoffs

Der Ammonium-Stickstoff wurde nach den DEV-Verfahren bestimmt.

500 ml oder weniger der filtrierten Wasserprobe werden in einen Destillierkolben eingefüllt und, falls notwendig, neutralisiert. Wird ein geringeres Volumen angewendet, so wird es mit ammoniakfreien destilliertem Wasser zu 500 ml ergänzt. Nach Zugabe von 25 ml Phosphat-Pufferlösung werden etwa 200 ml in eine Vorlage, die 50 ml Borsäurelösung enthält, überdestilliert, wobei das Kühlerende in die Vorlage eintaucht. Das Destillat wird mit 3 Tropfen Mischindikator-Lösung versetzt. Die Ammonium-Ionen werden mit 0,05 N Schwefelsäure gegen eine Blindprobe aus 50 ml der Borsäure-Lösung, die mit ammoniumfreiem, kohlensäurefreiem destilliertem Wasser zu etwa dem gleichen Volumen aufgefüllt wurde, als Farbvergleich titriert. Die Indikatorfarbe schlägt von violett nach grün um. Die Berechnung erfolgte nach der Gleichung:

$$\frac{a \cdot 0{,}70 \cdot 1000}{b} = G$$

In der Formel bedeuten:

a Verbrauch an 0,05 N Schwefelsäure in ml

b Volumen des angewendeten Wassers in ml

G Gehalt der Probe an Ammonium-Stickstoff (N) in mg/l

Herstellung der Phosphat-Pufferlösung:

14,3 g Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4, p.a., und 68,8 g Dikaliumhydrogenphosphat, K_2HPO_4, wasserfrei, reinst, werden in destilliertem Wasser gelöst; die Lösung wird mit destilliertem Wasser auf 1 l aufgefüllt.

Herstellung der Borsäure-Lösung:

40 g Borsäure, H_3BO_3, p.a., und 1 l ammonium- und kohlensäurefreies destilliertes Wasser.

Herstellung der Mischindikator-Lösung:

Lösung a) 30 mg Methylrot und 100 ml Äthanol;
Lösung b) 100 mg Methylenblau und 100 ml destilliertes Wasser; 100 ml der Lösung a) werden mit 15 ml der Lösung b) gemischt.

9. Bestimmung des Nitrit-Ions

Die Bestimmung des Nitrit-Ions wurde nach den DEV-Verfahren durchgeführt.

50 ml der Wasserprobe werden gegebenenfalls nach Vorbehandlung in einen Erlenmeyerkolben gegeben und mit 1 ml Sulfanilamid-Lösung versetzt. Die Wasserprobe wird im Dunklen mit Leitungswasser gekühlt und nach 10 Minuten, spätestens nach 20 Minuten, mit 1 ml N-(1-Naphtyl)-äthylendiamin-dihydrochlorid-Lösung versetzt. Die maximale Farbentwicklung dauert mindestens 10 Minuten. Danach wird die Lösung innerhalb von 2 Stunden gegen destilliertes Wasser bei einer Wellenlänge von 530 nm in einer Küvette, Schichtdicke 10, 20 oder 50 mm, photometriert. In gleicher Weise wird eine Blindprobe untersucht, bei der anstelle der Wasserprobe 50 ml destilliertes Wasser verwendet werden.

Der Gehalt der Wasserprobe an Nitrit-Stickstoff ergibt sich aus der Formel:

$$\frac{(E-E_o) \cdot f}{s} = G$$

In dieser Formel bedeuten:

E Extinktion der Wasserprobe

E_o Extinktion der Blindprobe

f Eichfaktor

s Schichtdicke der Küvette in mm

G Gehalt der Wasserprobe an Nitrit-Stickstoff (N) in mg/l

Herstellung der Sulfanilamid-Lösung:

5,0 g Sulfanilamid, $C_6H_8N_2O_2S$, werden in 50 ml Salzsäure, HCl, p.a., d=1,19 g/ml und 300 ml dest. Wasser gelöst; die Lösung wird mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Diese Lösung ist mehrere Monate haltbar.

Herstellung der N-(1-Naphtyl)-äthylendiamin-dihydrochlorid-Lösung:

0,50 g des Dihydrochlorids, $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$, werden in dest. Wasser gelöst; die Lösung wird mit dest. Wasser auf 500 ml verdünnt. Die Lösung ist nach Filtrieren (Membranfilter 0,45 µm) bei Aufbewahren in brauner Flasche mindestens 1 Monat haltbar.

Herstellung der Nitrit-Stammlösung:

0,4926 g Natriumnitrit, $NaNO_2$, p.a., (1 h bei 110 °C getrocknet) werden in dest. Wasser gelöst; die Lösung wird mit dest. Wasser auf 1 l aufgefüllt. Zur Stabilisierung wird ihr 1 ml Chloroform hinzugefügt; sie

wird intensiv umgeschüttelt. 1 ml dieser Lösung enthält 0,1 mg Nitrit-Stickstoff.
Die Lösung wird gegen Kaliumpermanganat genau eingestellt und ihr Titer wöchentlich kontrolliert. Sie ist in brauner, gut verschlossener Glasflasche und dunkel aufbewahrt viele Monate haltbar.

Herstellung der Nitrit-Standardlösung:

10 ml der Nitrit-Stammlösung werden mit destilliertem Wasser auf 100 ml verdünnt. 1 ml dieser Lösung enthält 0,01 mg Nitrit-Stickstoff. Der Titer der Stammlösung ist bei der Auswertung zu berücksichtigen.

10. Bestimmung des Nitrat-Ions

Das Nitrat-Ion wurde nach den DEV-Verfahren bestimmt. In einen Erlenmeyerkolben gibt man 5 ml des zu untersuchenden Wassers, pipettiert 40 ml Säuremischung und 5 ml Dimethylphenol-Lösung dazu, mischt und photometriert die Lösung nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten bei einer Wellenlänge von 324 nm in Küvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm bzw. 5 cm. Die Küvetten müssen vor der Messung mit der Säuremischung wasserfrei gespült werden. Das spektrale Absorptionsmaß (Extinktion) bleibt etwa 1 Stunde konstant.

In gleicher Weise wird eine Blindprobe untersucht, bei der anstelle der Wasserprobe 5 ml destilliertes Wasser verwandt werden. War eine Vorbehandlung der Wasserprobe nötig, so müssen die dafür zugesetzten Chemikalien auch in der Blindprobe enthalten sein.
Die Eichkurve erhält man, indem Proben in der oben beschriebenen Weise untersucht werden, die anstelle der Wasserproben 5 ml einer der Standardlösungen enthalten, die durch geeignete Verdünnung aus der Nitrat-Stammlösung hergestellt werden. Die Konzentrationen der verschiedenen Standardlösungen sollen den erwarteten Meßbereich möglichst gleichmäßig überdecken.

Auf der Abszisse werden die Massenkonzentrationen der Standardlösungen, auf der Ordinate die zugehörigen Werte des spektralen Absorptionsmaßes (Extinktion) aufgetragen. Die Meßpunkte müssen auf einer Geraden liegen. Aus dem Quotienten einer Massenkonzentration und dem zugehörigen spektralen Absorptionsmaß ergibt sich unter Berücksichtigung der Küvettenschichtdicke der Eichfaktor f mit der Einheit cm · mg/l.

Die Massenkonzentration der Wasserprobe an Nitrat-Stickstoff ergibt sich aus der Gleichung:

$$\varrho = \frac{(E - E_o) \cdot f}{s}$$

Hierin bedeuten:

ϱ Massenkonzentration der Wasserprobe an Nitrat-Stickstoff (N), in mg/l

E spektrales Absorptionsmaß (Extinktion) der Wasserprobe

E_o spektrales Absorptionsmaß (Extinktion) der Blindprobe

f Eichfaktor mit der Einheit cm · mg/l

s Schichtdicke der Küvette in cm

Herstellung der Dimethylphenol-Lösung:

1,2 g 2,6-Dimethylphenol, $C_8H_{10}O$, zur Analyse, werden in 1 l Essigsäure, CH_3COOH, wasserfrei, zur Analyse, gelöst. Die Lösung ist wöchentlich neu anzusetzen.

Herstellung der Säuremischung:

1 Volumen Schwefelsäure, H_2SO_4, zur Analyse, ϱ = 1,84 g/ml wird mit 1 Volumen Phosphorsäure, H_3PO_4, zur

Analyse, ϱ = 1,71 g/ml, gemischt.

Herstellung der Nitrat-Stammlösung:

0,3609 g Kaliumnitrat, KNO_3, zur Analyse, bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet und im Exsikkator über Kieselgel aufbewahrt, werden in destilliertem Wasser gelöst; die Lösung wird mit destilliertem Wasser auf 1 l aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung enthält 0,05 mg Nitrat-Stickstoff (N).

11. Schwermetallremobilisierung von HS

Es wurden Metallsalzlösungen hergestellt, die 500 mg Metall pro 100 ml Lösung enthielten. Die Stammlösungen wurden mit bidestilliertem Wasser auf 150 ml aufgefüllt und mit verdünnter NaOH auf pH 8,5 eingestellt, wobei das Hydroxid ausfiel. Man füllte dann auf 200 ml genau auf, entnahm eine Probe von 15 ml, die über ein Filter der Porengröße 0,2 µm mit 2,3 bar N_2-Druck filtriert wurde. Aus dem Filtrat wurde mit Hilfe der Atomabsorption die Restkonzentration an gelöstem Metall bestimmt (Null-Wert).

Anschließend wurden 200 mg Huminsäure zugesetzt, der

pH-Wert gegebenenfalls erneut auf pH 8,5 eingestellt und nach 10 Minuten wieder eine Probe entnommen,die entsprechend untersucht wurde.Weitere Proben wurden nach 20,30,60,120, 240 und 300 Minuten entnommen.

Zu den Zeitreihen wurden folgende Mengen der verschiedenen Stammlösungen verwendet:

Fe : 4 ml
Cu : 5 ml
Cr : 4 ml
Hg : 14 ml
Cd : 15 ml
Zn : 6 ml
Pb : 14 ml

Für die Gesamtkomplexierungsreihe wurden folgende Mengen der Stammlösungen verwendet:

Fe : 2,0 ml
Cu : 2,5 ml
Cr : 2,0 ml
Hg : 7,0 ml
Cd : 7,5 ml
Zn : 3,0 ml
Pb : 7,0 ml

Das Gemisch wurde auf 500 ml aufgefüllt, nachdem der pH-Wert 8,5 eingestellt war. Man entnahm den Null-Wert, fügte 0,5 g HS hinzu und verfuhr wie oben beschrieben.

12. Darstellung von 5,6-Dihydroxyindol [1]

12.1. Darstellung von 2-Nitro-4,5-methylendioxy-benzaldehyd (74)

Während einer Dauer von ca. 6 Stunden wurden unter intensivem Rühren 50 g Piperonal in 0,5 l konz. Salpetersäure eingetragen, wobei die Temperatur des Gemisches 0 °C nicht überschritt. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch noch 14 Stunden bei -2 bis 0 °C gerührt, goß es anschließend auf Eis, wusch mit Wasser neutral und kristallisierte es aus Essigester/Ethanol (1:1) um. Man erhielt zitronengelbe, licht- und hitzeempfindliche Kristalle.

Fp : 95 - 98 °C

Fp_{Lit} : 97 - 98 °C (74)

Ausbeute : 42,6 g

---

1) Ich danke Frau B. Evers für die Darstellung des Präparates.

12.2. Darstellung von 2-Nitro-4,5-methylendioxy-ω-nitrostyrol (74)

Ein Gemisch von 41,5 g 2-Nitro-4,5-methylendioxybenzaldehyd, 55,3 cm^3 Nitromethan, 27,7 g Ammoniumacetat und 213 cm^3 Eisessig wurde zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Man destillierte etwa die Hälfte des Lösungsmittels ab und goß unter intensivem Rühren das Reaktionsprodukt in Eis/Wasser, wobei sich eine schwarze teerähnliche Masse bildete. Diese saugte man sofort ab und wusch mit Wasser. Schließlich kristallisierte man das Produkt in Ethanol/Wasser um und erhielt so grüngelbe nadelförmige Kristalle.

Fp : 118 - 121 °C

Fp_{Lit} : 121 - 122 °C (74)

Ausbeute : 19 g

12.3. Darstellung von 5,6-Methylendioxy-indol (74)

In einen Dreihalskolben, der mit KPG-Rührer und Rückflußkühler versehen war, gab man 18 g 2-Nitro-4,5-methylendioxy-ω-nitrostyrol, 141 cm^3 Eisessig und 70 g Eisenpulver. Die exotherm ablaufende Reaktion sprang sofort an. Zunächst kühlte man mit Wasser und erhitzte dann nach Abklingen der Reaktion noch 30 Minuten unter

Rückfluß. Anschließend wurde eine Lösung von 103 g NaOH in 429 ml Wasser zugesetzt und das Gemisch wasserdampf-destilliert. Das Destillat, das 40 l umfaßte, wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft, wobei die Wasserbadtemperatur 30 °C nicht überschritt. Das Rohprodukt kristallisierte man aus Benzin um und erhielt leicht rosa farbene Nadeln. Nach einer Sublimation bei 150 °C und 66,5 Pa erhielt man ein weißes Produkt.

Fp	:	107 -109 °C
Fp_{Lit}	:	108 - 110 °C (74)
Ausbeute	:	3,9 g

12.4. Darstellung von 5,6-Dihydroxyindol (75, 76)

0,5 g 5,6-Methylendioxy-indol wurden in 25 ml Ether gelöst, 1 g Kalilauge zugesetzt und 10 Stunden unter Stickstoff am Rückflußkühler gekocht. Das Lösungsmittel wurde abgezogen und der Rückstand bei 150 °C und 40 Pa sublimiert. Es konnten 0,05 g 5,6-Dihydroxyindol erhalten werden, das äußerst sauerstoffempfindlich ist. Das Produkt wurde anhand eines Massenspektrums als 5,6-Dihydroxyindol identifiziert.

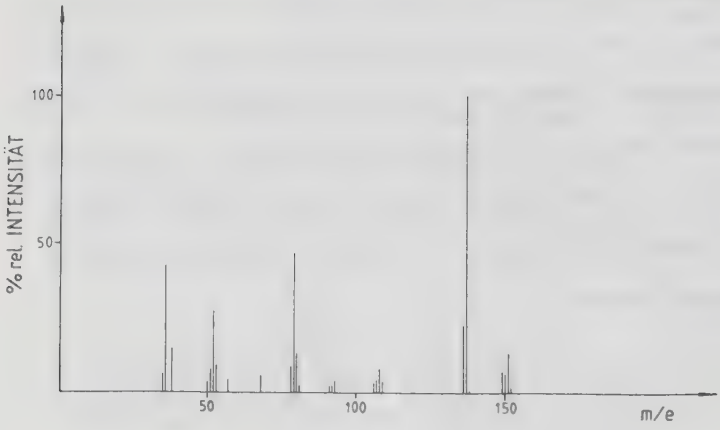


Abb. 46 : Massenspektrum von 5,6 Dihydroxyindol

Das Massenspektrum zeigt Peaks bei m/e 149, 150, 151 obwohl das Molekulargewicht 149 beträgt. Durch einen D_2O- Austausch konnte gezeigt werden, daß es sich tatsächlich um das gewünschte Produkt handelt, dieses aber ein bzw. zwei Protonen anlagert.

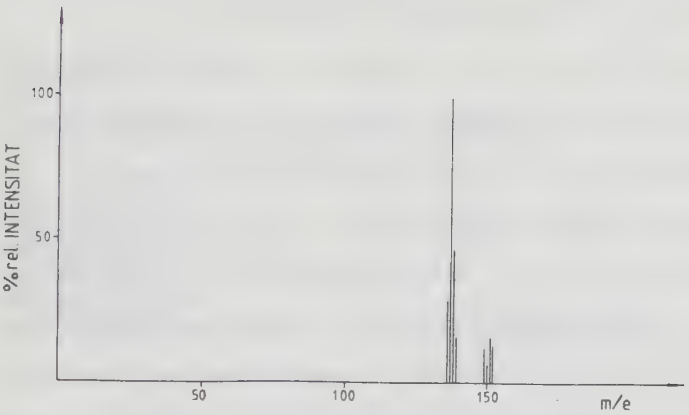


Abb. 47 : Massenspektrum von 5,6-Dihydroxyindol nach D_2O-Austausch

13. Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Luftsauerstoff (77)

In 50 ml Wasser und 350 ml 0,1 m Phosphatpuffer pH 8 (12,06 g Na_2HPO_4 und 0,675 g KH_2PO_4 in 500 ml Wasser) löste man 1 g Dopa. Durch diese Lösung leitete man bei Zimmertemperatur 141 Stunden einen schwachen Luftstrom, den man vorher zur Reinigung durch konz. Schwefelsäure, 40 %ige Kalilauge und Wasser geschickt hatte. Nach Beendigung der Reaktionszeit wurde die dunkelbraune bis schwarze Lösung entsprechend der HS-Isolierung (vgl. III.3) aufgearbeitet.

14. Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Kaliumhexacyanoferrat III (73)

Zu einer Lösung von 2 g Dopa und 1 g Natriumhydrogencarbonat in 50 ml Wasser fügte man unter Rühren eine Lösung von 13 g Kaliumhexacyanoferrat III und 3 g Natriumhydrogencarbonat in 150 ml Wasser. Nach 10 Minuten wurde die so erhaltene dunkelrote Lösung mit 80 ml 20 %ige Zinkacetatlösung versetzt und kräftig geschüttelt. Die dunkelrote Farbe schlägt nach Grau um. Um eine weitere Oxidation zu verhindern, fügte man eine Spatelspitze Natriumdithionit zu. Das ausgefallene Zinkferrocyanid wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden dann wie in III.3. beschrieben aufgearbeitet.

15. Darstellung von Melanin aus 3,4-Dihydroxyphenylalanin mit Singulett-Sauerstoff

In 50 ml Wasser und 250 ml 0,1 m Phosphatpuffer pH 8 (12,06 g Na_2HPO_4 und 0,675 g KH_2PO_4 auf 500 ml Wasser) wurden 300 mg Dopa und 0,4 g Eosin gelöst. Unter Bestrahlung mit einer Hg-Mitteldrucklampe leitete man durch diese Lösung drei Stunden Sauerstoff. Nach beendeter Reaktionszeit wurde die dunkelgrün gefärbte

Lösung nach III.3. aufgearbeitet.

16. CD-Kurven

16.1. CD-Kurven von der gereinigten HS

Konzentration	c	:	5 mg/ml
Schichtdicke	I	:	0,2 mm
Empfindlichkeit	S	:	$1 \cdot 10^{-5}$
Zeitkonstante		:	4
Geschwindigkeit		:	0,125 x 0,5
Molekulargewicht	M	:	8000 (angenommen)

$$\theta = \frac{3300 \cdot d \cdot S \cdot M}{c \cdot I}$$

16.2. CD-Kurven des Spaltstücks < 1000 dalton

Konzentration	c	:	2,5 mg/ml
Schichtdicke	I	:	0,5 mm
Empfindlichkeit	S	:	$1 \cdot 10^{-5}$
Zeitkonstante		:	4
Geschwindigkeit		:	0,125 x 0,5
Molekulargewicht	M	:	1000 (angenommen)

16.3. CD-Kurven des Spaltstücks > 1000 dalton

Konzentration	c	:	5 mg/ml
Schichtdicke	I	:	0,5 mm
Empfindlichkeit	S	:	$1 \cdot 10^{-5}$
Zeitkonstante		:	4
Geschwindigkeit		:	0,125 x 0,5
Molekulargewicht	M	:	5000 (angenommen)

17. NMR-Spektroskopische Untersuchung der Huminsäuren

Sämtliche Proben wurden 3 Minuten mit gereinigtem Stickstoff begast. Wenn nicht anders angegeben, war das Lösungsmittel D_2O.

17.1. ^{1}H-NMR-Spektren

90 MHz, Brucker WH 90 Spektrometer

Meßtemperatur	: 27 °C
Spektrenbreite	: 3000 Hz
Pulswinkel	: 3,0 usec
Probenmenge	: ca. 20 mg

17.2. ^{13}C-NMR-Spektren

22,628 MHz, Brucker WH 90 Spektrometer

Meßtemperatur	: 30 °C
Spektrenbreite	: 6000 Hz
Pulswinkel	: 2,5 - 3,0 usec
Probenmenge	: ca. 50 mg

Es wurden bis zu 640 000 scans akkumuliert.

17.3. PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektren

17.3.1. PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektrum von nativer HS

75,46 MHz

Rotationsfrequenz	: 3 kHz
eingestrahlte Protonenbreite	: 31 kHz
Magic angle	: 54,7 °

Es wurden ca.4000 scans akkumuliert.

17.3.2. PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektrum von Torf

50,3 MHz

Rotationsfrequenz	: 3 kHz
eingestrahlte Protonenbreite	: 31 kHz
Magic angle	: 54,7 °

Es wurden ca. 4000 scans akkumuliert.

17.3.3. PE-MAS-^{13}C-NMR-Spektrum von HS aus Braunkohle

50,3 MHz

Rotationsfrequenz	: 3 kHz
eingestrahlte Protonenbreite	: 31 kHz
Magic angle	: 54,7 °

Es wurden ca. 4000 scans akkumuliert.

IV Literaturverzeichnis

1.) R.A.Bourbonniere und P.A.Meyers,
Can.J.Spectrosc. 23,35 (1978)

2.) K.Jahns,
Diplomarbeit:Tübingen (1978)

3.) W.Flaig und H.L.Schmidt,
Archiv f. Mikrobiol. 27,1 (1957)

4.) K.Haider und J.P.Martin,
Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 31,766 (1967)

5.) L.L.Somani und S.N.Saxena,
J.Indian Soc.Soil Sci. 24 (2),192 (1976)

6.) J.P.Martin,S.J.Richards und K.Haider,
Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 31,657 (1967)

7.) G.A.Swan und R.A.Nicolaus,
Rend.Accad.Sci.Fis.Mat. 31,212 (1964)

8.) W.Bergmann,
Dissertation:Tübingen (1978)

9.) M.A.Wilson,A.J.Jones und B.Williamson,
Nature 276,487 (1978)

10.) W.Ziechmann,
Z.Pflanzenernaehr.Bodenkd. 140,151 (1977)

11.) D.H.Stuermer und G.R.Harvey,
Mar.Chem. 6,55 (1978)

12.) C.Steelink,
J.Chem.Educ. 54,599 (1977)

13.) J.Bozzay,I.Rusnák und I.Varga
Period.Polytech.Chem.Eng. 23 (2),99 (1979)

14.) D.S.Orlov,
Biol.Nauki (Moscow) 20,5 (1977)

15.) F.H.Frimmel,
Vom Wasser 49,1 (1977)

16.) K.M. Holtzclaw und G. Sposito,
Soil Sci. Sox. Am. J. 42, 607 (1978)

17.) W.E. Baker,
Geochim. Cosmochim. Acta 42, 645 (1978)

18.) B. Lacatos, J. Meisel,
Acta Agron. Acad. Sci. Hung. 27, 313 (1978)

19.) Y. Chen, N. Senesi und M. Schnitzer,
Geoderma 20, 87 (1978)

20.) K.H. Tan,
Soil Sci. 123, 235 (1977)

21.) G. Sposito, K.M. Holtzclaw und J. Baham,
Soil Sci. Soc. Am. J. 40, 691 (1976)

22.) O. B. Maximov und N.P. Krasovskaya,
Geoderma 18, 227 (1977)

23.) O.H. Danneberg und J. Schmidt,
Bodenkultur 29, 1 (1978)

24.) R.K. Shah und M.R. Chokshi,
Chem. Era 12, 255 (1976)

25.) F.J. González-Vila, F.Martin, C.Saiz-Jimenez und
H.H. Nimz,
J. Therm. Anal. 15, 279 (1979)

26.) S.K. Majumdar, C.V.N. Rao und S.K. Banerjee,
J. Indian Soc. Soil Sci. 24 (2), 132 (1976)

27.) Y. Matsui und K. Kumada,
Soil Sci. Plant Nutr. , 23 (3), 341 (1977)

28.) J.C. Ottow,
Naturwissenschaften 65, 413 (1978)

29.) R. Sander, W. Kühn und H. Sontheimer,
Z. f. Wasser- und Abwasser-Forschung 10, 155 (1977)

30.) J.J. Rook,
Water Trtmt. Exam. 23, 234 (1974)

31.) J.J. Rook,
J. Amer. Water Works Assoc. 68, 168 (1976)

32.) J. M. Symons,
USEPA, Washington June 1975

33.) A.A.Stevens,
USEPA, Cincinnati 1975

34.) B.G. Oliver,
Can. Res. 11, 21 (1978)

35.) D. Strauch und H. Wassen,
gwf-Wasser/Abwasser 117, 129 (1976)

36.) E. Hess und C. Breer,
Gas-Wasser-Abwasser 56, 385 (1976)

37.) Merkblatt Nr. 7 aus "Bundesgesundheitsblatt"
15, 234 (1972)

38.) D. Strauch,
Tagung Umweltforschung Universität Hohenheim 1980

39.) I.P. Martin, K.Haider und D. Wolf,
Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 36 (2), 311 (1972) E.

40.) G. Müller-Neuhaus,
gwf-Wasser/Abwasser 112, 392 (1971)

41.) U. Loll,
Korrespondenz Abwasser 21, 135 (1974)

42.) U. Loll,
gwf-Wasser/Abwasser 115, 191 (1974)

43.) F. Pöpel,
Umweltschutz-Städtereinigung 1971, H. 4

44.) G. Niese,
Gesundheits-Ingenieur 90, 119 (1969)

45.) F. Scheffer und B. Ulrich,
Humus und Humusdüngung, F. Enke Verlag, Stuttgart,
1960

46.) M. Schnitzer und S.U. Khan,
Humic Substances in the Environment, Marcel Dekker,
New York, 1972

47.) J.H. Weber und S.A. Wilson,
Water Res. 9, 1079 (1975)

48.) R. Obenaus und D. Mücke,
Acta biol. med. germ., 10, 233 (1963)

49.) E. T. Gjessing,
Environ, Sci. Technol. 4, 437 (1970)

50.) H.-D. Saier und H. Strathmann,
Angew. Chem. 87, 476 (1975)

51.) P. Müller,
Kontakte 1, 35 (1978)

52.) J.J. Alberts, J.E. Schindler, D.E. Nutter und E. Davis,
Geochim. Cosmochim. Acta, 40, 369 (1976)

53.) W. Jäger,
Dissertation: Tübingen (1975)

54.) H. Eberhardt,
Dissertation: Tübingen (1976)

55.) F. Scheffer und W. Ziechmann,
Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd. 116, 106 (1967)

56.) J.D. Russell und H.A. Anderson,
Plant and Soil 48, 547 (1977)

57.) D.J. Linehan,
Journal of Soil Sci, 28, 369 (1977)

58.) R.J. Morrison,
J. Soil Sci. 9, 130 (1958)

59.) R.E. Wildung, G. Chesters und D.E. Behmer,
Plant and Soil 32, 221 (1970)

60.) G. Greene und C. Steelink,
J. Org. Chem. 27, 170 (1962)

61.) S.M. Griffith und M. Schnitzer,
Soil Sci 122, 191 (1976)

62.) R. B. Randall, M. Benger und C.M. Groocock,
Proc. Roy. Soc.Al 165, 432 (1938)

63.) I.G. Burns, M.H.B. Hayes und M. Stacey,
Pestic. Sci. 4, 20 (1973)

64.) N.C.Mehta,P.Dubach und H.Deuel,
Z.Pflanzenernaehr.Bodenkd. 101,147 (1963)

65.) H.König,
Analyse von Tensiden,Springer-Verlag Berlin 1971

66.) E.Breitmaier,G.Haas und W.Voelter,
Atlas of Carbon-13 NMR Data

67.) E.Breitmaier und W.Voelter,
^{13}C-NMR-Spektroscopy,Verlag Chemie,1978

68.) J.Schaefer und E.O.Stejskal,
Macromolecules 10,384 (1977)

69.) D.Müller,
Bruker-Report 1,12 (1978)

70.) M.Barber,T.O.Merren und W.Kelly,
Tetrahedron Letters 1964,1063

71.) C.Saiz-Jimenez,K.Haider und H.L.C.Meuzelaar,
Geoderma 22,25 (1979)

72.) E.Breitmaier und G.Bauer,
^{13}C-NMR-Spektroscopie,Thieme-Verlag 1977

73.) J.Harley-Mason und J.D.Bu'Lock,
J.Chem.Soc. 1951,2248

74.) F.Dallacker und D.Bernabei,
Mh.Chem. 98,785 (1967)

75.) H.Parijs,
Rec.Trav.Chim. 49,33(1930)

76.) J.Harley-Mason,
J.Chem.Soc. 1953,200

77.) F.Binns,R.F.Chapman,N.C.Robson,G.A.Swan und
A.Waggott,
J.Chem.Soc. (C) 1970,1128

78.) C.Saiz-Jimenez,F.Martin,K.Haider und H.L.C.
Meuzelaar,
Agrochimica 22,353 (1978)

79.) L.W.Newland,J.R.T.Eyck und V.K.Ohr,
Identif.Anal.Org.Pollut.Water 1st 1975,281

80.) S.M.Griffith,F.I.Sowden und M.Schnitzer,
Soil Biol.Biochem. 8,529 (1976)

81.) R.Kickuth und F.Scheffer,
Agrochimica 20,373 (1976)

82.) K.H.Tan,
Plant Soil 48,89 (1977)

83.) J.C.T.Kwak,R.W.P.Nelson und D.S.Gamble,
Geochim.Cosmochim.Acta 41,993 (1977)

84.) H.A.Anderson,A.R.Fraser,A.Hepburn und I.D.Russell,
J.Soil Sci. 28,623 (1977)

85.) R.K.Shah,M.R.Chokshi,B.C.Joshi und V.C.Lala,
Chem Era 13,277 (1977)

86.) A.Ramunni und R.Scialdone,
Ann.Fac.Sci.Agrar.Univ.Studi.Napoli,Portici 9-10,
292 (1976)

87.) R.W.Aldag,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp.1976 1,293;
IAEA:Vienna,Austria

88.) F.Andreux,D.Golebiowska,T.Chone,F.Jacquin und
M.Metche,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp. 1976 2,43;
IAEA:Vienna,Austria

89.) K.Haider.B.R.Nagar,C.Saiz,H.L.C.Meuzelaar und
J.P.Martin,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp.1976 2,213;
IAEA:Vienna,Austria

90.) W.Rochus,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp. 1976 2,365;
IAEA:Vienna,Austria

91.) O.H.Danneberg,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp. 1976 2,221;
IAEA:Vienna,Austria

92.) I.-A.Neyroud und M.Schnitzer,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp. 1976 2,157;
IAEA:Vienna,Austria

93.) B.R.Nagar,
Soil Org.Matter Stud.,Proc.Symp. 1976 2,171;
IAEA:Vienna,Austria

94.) F.Kunc,R.A.Lokhmacheva und J.Macura,
Folia Microbiol. 21,257 (1976)

95.) J.P.Martin und K.Haider,
Soil Sci. 107,260 (1968)

96.) K.S.Kang und G.T.Felbeck,Jr.,
Soil Sci. 99,175 (1964)

97.) J.Slawinski,W.Puzyna und D.Slawinska,
Photochemistry and Photobiology 28,459 (1978)

98.) J.Slawinski,W.Puzyna und D.Slawinska,
Photochemistry and Photobiology 28,75 (1978)

99.) J.P.Martin,K.Haider und D.Wolf,
Soil Sci.Soc.Amer.Proc. 36,311 (1972)

100.) K.Haider und J.P.Martin,
Soil Biol.Biochem. 2,145 (1970)

101.) M.S.Blois,Jr.,
Solid State Biophysics,Edited by S.J.Wyard London

102.) M.Piattelli,E.Fattorusso,S.Magno und R.A.Nicolaus,
Tetrahedron 19,2061 (1963)

103.) E.Dorado und A.Polo,
An.Edafol.Agrobiol. 35,723 (1976)

104.) E.A.Rumyantseva und L.N.Aleksandrova,
Zap.Leningr. s-kh.Inst. 269,58 (1976)

105.) S.A.Wilson und J.H.Weber,
Prepr.Pap.Natt.Meet.,Div.Environ.Chem.,Am.Chem.
Soc. 15,229 (1975)

106.) K.H.Tan,
Plant Soil 47,263 (1977)

107.) S.A.Wilson und J.H.Weber,
Chem.Geol. 19,285 (1977)

108.) V.N.Vasantharajan,
J.Indian Inst.Sci. 59,75 (1977)

109.) Y.Chen,N.Senesi und M.Schnitzer,
Soil Sci.Soc.Am.J. 41,352 (1977)

110.) D.H.Stuermer und G.R.Harvey,
Deep-Sea Res. 24,303 (1977)

111.) V.Minkova,G.Angelova und D.Totzev,
Izv.Khim. 9,71 (1976)

112.) S.K.Banerjee und K.B.Roy,
Fert.Technol. 13,313 (1976)

113.) R.L.Wershaw und D.J.Pinckney,
J.Res.U.S.Geol.Surv. 5,571 (1977)

114.) O.B.Maximov,T.V.Shvets und Yu.N.Elkin,
Geoderma 19,63 (1977)

115.) Y.Matsui und K.Kumada,
Soil Sci.Plant.Nutr. 23,491 (1977)

116.) G.Ogner und T.Groenneberg,
Geoderma 19,237 (1977)

117.) H.A.Anderson und A.Hepburn,
J.Soil Sci. 28,634 (1977)

118.) T.Higashi und K.Wada,
J.Soil Sci. 28,653 (1977)

119.) G.Sposito,K.M.Holtzclaw und D.A.Keech,
Soil Sci.Soc.Am.J. 41,1119 (1977)

120.) V.G.Aranda,J.Osácar und G.Revuelta,
Quim.Anal. 31,9 (1977)

121.) K.Lundquist,B.Josefsson und G.Nyquist,
Holzforschung 32,27 (1978)

122.) B.R.Nagar,
J.Sci.Ind.Res. 36,204 (1977)

123.) U.Müller-Wegener,
Chem.Erde 36,352 (1977)

124.) K.R.Tate und H.A.Anderson,
J.Soil Sci. 29,76 (1978)

125.) H.A.Anderson,A.Hepburn und A.Sim,
J.Soil Sci. 29,84 (1978)

126.) D.S.Alderdice,B.R.Craven,W.Creswick und W.D.
Johnson,
Aust.J.Soil Res. 16,41 (1978)

127.) P.Sklodowski und H.Kaminska,
Pol.J.Soil Sci. 10,107 (1977)

128.) M.Schnitzer,
Agrochimica 22,216 (1978)

129.) R.Scialdone und A.Ramunni,
Agrochimica 22,344 (1978)

130.) G.Ogner,
Soil Sci. 116,93 (1972)

131.) J.A.Neyroud und M.Schnitzer,
Can.J.Chem. 52,4123 (1974)

132.) F.Martin,C.Saiz-Jimenez und A.Cert,
Soil Sci.Soc.Am.J. 43,309 (1979)

133.) H.L.Retcofsky,F.K.Schweighardt und M.Hough,
Anal.Chem. 49,585 (1977)

134.) R.L.Wershaw und D.J.Pinckney,
Sci. 199,906 (1978)

135.) D.Grant,
Nature 270,709 (1977)

136.) E.Fustec-Mathon,K.Haider und J.P.Martin,
C.R.Acad.Sc.Paris,Serie D,t 276,929 (1973)

137.) F.Tucek,P.Lischke und Chudoba,
Z.f.Wasser- und Abwasser-Forschung 12,242 (1979)

138.) J.Chudoba,F.Tucek und P.Lischke,
Z.f.Wasser- und Abwasser-Forschung 8,99 (1975)

139.) H.De Haan und T.De Boer,
Arch.Hydrobiol. 85,30 (1979)

140.) G.R.Aiken,E.M.Thurmann und R.L.Malcolm,
Anal.Chem. 51,1799 (1979)

141.) J.Witthauer,
Acta hydrochim.hydrobiol. 4,509 (1976)

142.) V.K.Mutatker und G.H.Wagner,
Soil Sci.Soc. Amer.Proc. 31,66 (1967)

143.) O.Sato,
Soil Sci.Plant.Nutr. 22,485 (1976)

144.) R.K.Shah,K.P.Soni,M.R.Chokshi und B.C.Joshi,
Chem.Era 12,176 (1976)

145.) F.Martin und C.Saiz-Jimenez,
Fuel 57,353 (1978)

146.) F.Martin,C.Saiz-Jimenez und A.Cert,
Soil Sci.Soc.Am.J. 41,1114 (1977)

147.) R.L.Wershaw,D.J.Pinckney und S.E.Booker,
J.Res.U.S.Geol.Surv. 5,565 (1977)

148.) H.L.C.Meuzelaar,K.Haider,B.R.Nagar und J.P.
Martin,
Geoderma 17,239 (1977)

149.) H.J.Kutzner,
Landwirtschaftliche Forschung 21,48 (1968)

150.) E.S.Kempa,
gwf-Wasser/Abwasser 111,10 (1970)

151.) U.Loll und N.Wolters,
Offenlegungsschrift 2445309

152.) U.Loll und J.C.G.Ottow,
gwf-Wasser/Abwasser 115,511 (1974)

153.) U.Loll,
Kommunalwirtschaft 9,313 (1977)

Meine akademischen Lehrer waren:

E. Bayer, W. Braun, G. Häfelinger, H. Hagenmaier, M. Hanack, G. Jung, S. Kemmler-Sack, G. Kortüm, E. Lindner, I.P. Lorenz, H. Mauser, E. Müller, H. Oberhammer, D. Oelkrug, G. Opitz, H. Pauschmann, G. Pausewang, A. Rieker, W. Rüdorff, W. Rundel, F.F. Seelig, H. Stegmann, J. Strähle, E. Stumpp, H. Suhr, W. Voelter, W. Zeil

Lebenslauf

20.10.1945	Geburt in Oberthomasdorf, CSSR, als Sohn des Oberfeldmeisters Kuno Jahns und seiner Ehefrau Elfriede, geb. Scherich
1951-1955	Grundschule in Wirsberg Ofr.
1955-1963	Besuch der Oberrealschule in Kulmbach und Backnang
1963-1965	Ausbildung zum staatlich geprüften Chemotechniker
1965-1966	Industrietätigkeit bei Fa. W.Rüsch, Rommelshausen
1966-1969	Studium an der NTA Prof. Dr. Grübler, Isny
1969	Staatsexamen zum Ingenieur grad. der Fachrichtung Allgemeine Chemie
1969	Prüfung zur Zuerkennung der eingeschränkten Hochschulreife
1969-1971	Studium der Chemie an der Universität Tübingen
1971	Vordiplomprüfung in Chemie
1971-1977	Studium der Chemie an der Universität Tübingen
1977	Diplomprüfung in Chemie
Nov.1977 - April 1978	Diplomarbeit unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Bayer
Mai 1978 - März 1980	Experimentelle Doktorarbeit unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Bayer

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Forststraße 58 Telefon 0711/610641-42
7000 Stuttgart 1

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Forststraße 58 Telefon 0711/610641-42
7000 Stuttgart 1